

Wie wirken Schallwellen auf Pflanzen und Mikroorganismen?

Hans-Peter Bachmann¹, Beat Wampfler²

¹Agroscope, Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln, 3003 Bern, Schweiz

²Käsehaus K3, 3400 Burgdorf, Schweiz

Auskünfte: Hans-Peter Bachmann, E-Mail: hans-peter.bachmann@agroscope.admin.ch

<https://doi.org/10.34776/afs13-168> Publikationsdatum: 26. Oktober 2022



Abb. 1 | Im Käsehaus K3 in Burgdorf werden Käseläibe individuell mit Musik beschallt. (Foto: Agroscope)

Zusammenfassung

Die Fähigkeit biologischer Zellen, eine Vielzahl von Reizen wie Licht, mechanische Kräfte, Chemikalien usw. wahrzunehmen und darauf zu reagieren, steht ausser Zweifel. Obwohl in der Literatur zahlreiche Berichte über die Auswirkungen von Schall auf die Zellaktivität zu finden sind, bleibt die Erklärung der Wirkungsweise von Schall auf biologische Systeme eine komplizierte und schwierige Aufgabe. Die Forschung auf diesem Gebiet befindet sich noch in einem relativ frühen Stadium, und es ist nicht abschliessend geklärt, wie schallbasierte Mechanismen funktionieren könnten. Musik ist weder für Pflanzen noch für Mikroorganismen ökologisch relevant, aber es gibt Klänge, die für sie von Vorteil sein könnten. Die Empfindlichkeit der Pflanzen

und Mikroorganismen gegenüber einer Schallbehandlung spricht dafür, dass sie Schallwellen wahrnehmen, indem sie Anpassungen sowohl auf molekularer/physiologischer als auch auf morphologischer Ebene vornehmen. In jüngerer Zeit werden immer mehr Arbeiten über die Auswirkungen von Musik auf nicht-auditive Zellen veröffentlicht, vor allem durch Forschungsgruppen aus dem asiatischen Raum. Pflanzen und Mikroorganismen haben ausgeklügelte Mechanismen für die Wahrnehmung von Schallwellen und die damit verbundene Signalübermittlung.

Key words: sonication, sound, ultrasound, plants, microorganisms, fermented foods.

Einleitung

Schall ist eine mechanische Welle, die aus der Hin- und Her-Schwingung der Partikel eines Mediums resultiert. Wenn sie sich durch lebende Organismen bewegt, werden die Zellen durch die Energie der Schallwelle entlang der Welle räumlich verschoben, was zu biologischen Auswirkungen führt (Gu *et al.*, 2016).

Bei Tieren werden die Schallschwingungen von den Haarzellen im Innenohr aufgefangen, in elektrische Signale umgewandelt und an die Hörzentren des Gehirns weitergeleitet, wo sie z.B. als Musik interpretiert werden können. In der Literatur werden mannigfaltige Auswirkungen von Schall auf Emotionen, Stress und auch das Immunsystem beschrieben. Dabei dienen Biomoleküle wie Neurotransmitter, Hormone, Zytokine und Peptide als Vermittler zwischen der Musik und ihren Wirkungen (Gangrade, 2012).

Musikalische Schwingungen wirken jedoch auch auf andere Zelltypen in verschiedenen Organismen. Es wurden viele Arbeiten über die Auswirkungen von Musik auf nicht-hörende Zellen durchgeführt und dabei viele verschiedene Arten von Geräuschen (einfache und komplexe) mit einem breiten Spektrum von Tonfrequenzen und Schalldruckpegeln getestet. Die Ergebnisse, die sowohl für einfache als auch für komplexe Schallstudien berichtet wurden, sind mannigfaltig. So konnten Verbesserungen bei Zellmigration, Vermehrung, Koloniebildung und Differenzierungsfähigkeit festgestellt werden. Diese Effekte sind physiologischer Natur und erfordern Moleküle und physikochemische Mechanismen. Einige Arbeiten wurden an pflanzlichen oder tierischen Gesamtorganismen durchgeführt, andere direkt an Zellen unter Verwendung von Zellkulturen. Wenige Arbeiten betreffen einzellige Organismen. Die Ergebnisse dieser Studien zeigen, dass Musik und Klang verschiedene Effekte auf die Physiologie ausüben können. Die Experimente waren sehr unterschiedlich und die Ergebnisse sind dadurch schwer zu vergleichen, mit Effekten von verschiedenen Arten von Schall auf Organismen über auditive und/oder nicht-auditive Zellen. Unabhängig von der grossen Variation der Ergebnisse ist die Untersuchung der Auswirkungen von Klang und insbesondere von Musik auf die Zellen ein Thema für die Zukunft, wenn man die immensen Möglichkeiten bedenkt, die Musik bei der Modulation der Physiologie bietet, mit potenziellen Anwendungen in den unterschiedlichsten Bereichen (Exbrayat & Brun, 2019; Kwak *et al.*, 2022).

Wirkung auf Pflanzen

Die Neigung der Menschheit, die Natur durch das Fenster unserer eigenen Weisheit zu betrachten, ist ein

Grund dafür, dass es uns schwerfällt zu glauben, wonach Pflanzen über die gleichen Sinne verfügen können wie wir. So hat sich lange Zeit die aristotelische Sichtweise durchgesetzt, die Tiere und Pflanzen aufgrund ihrer Sinnesfähigkeit unterscheidet. Angesichts der schnellen sensorischen Bewegungen fleischfressender Pflanzen hat sich dieses Argument jedoch als nicht stichhaltig erwiesen. Daraus ergibt sich eine unmittelbare Frage: Wenn Pflanzen einen Tastsinn haben, warum können sie dann nicht auch Töne wahrnehmen?

Da sie sich nicht fortbewegen können, stehen Pflanzen unter dem ständigen Druck, sich mit zahlreichen Umweltreizen auseinanderzusetzen, um erfolgreich zu überleben. Daher haben die Pflanzen im Laufe der Evolution zahlreiche ausgeklügelte Mechanismen entwickelt, um diese Hinweise für die Steuerung ihres Wachstums und ihrer Entwicklung zu nutzen. Als Folge des unaufhörlichen evolutionären Drucks haben Pflanzen neben den bekannten biotischen und abiotischen Reizen (z.B. Licht, Temperatur und Befall mit Pathogenen) auch eine Sensibilität gegenüber physikalischen und mechanischen Faktoren (z.B. Wind, Regen, Berührung und Vibration) entwickelt. Der Sammelbegriff für das Wachstum und die Entwicklung von Pflanzen als Reaktion auf mechanische Störeinflüsse lautet Thigmomorphogenese (Chehab *et al.*, 2009). Pflanzenmembranen sind mit einer enormen Anzahl von mechano-sensitiven Kanälen ausgestattet, von denen man annimmt, dass sie auf Vibrationen ansprechen. Schallwellen können eine Veränderung der Spannung in biologischen Membranen bewirken und könnten durch die Aktivierung dieser Kanäle möglicherweise eine Signalkaskade auslösen (Haswell *et al.*, 2011).

Die positiven Auswirkungen von Schallwellen auf die Pflanzenphysiologie, die zu verbessertem Wachstum, Entwicklung und Krankheitsresistenz führen, sind durch viele Studien gut belegt. Bereits zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurde die Wirkung von Musik auf das Wachstum und die Gesundheit von Pflanzen beschrieben (Blackman, 1907). Interessanterweise hat sich in den letzten zwei Jahrzehnten immer mehr bestätigt, dass Schallwellen bestimmter Frequenzen Prozesse wie Samenkeimung, Wurzelverlängerung, Kalluswachstum und Zellzyklus (da Silva & Dobránszki, 2014) sowie Keimungsrate, Pflanzenwachstum und den Ertrag positiv beeinflussen können (Mishra *et al.*, 2016; Vicient, 2017). Darüber hinaus gibt es erste Hinweise, dass Schallwellen die Immunität der Pflanzen gegen Krankheitserreger verbessern (Choi *et al.*, 2017) und auch ihre Toleranz ge-

genüber Trockenheit erhöhen können (López-Ribera & Vicient, 2017). Noch verblüffender ist, dass Pflanzen die Kau- und Paarungsgeräusche von Insektenlarven und das Summen von bestäubenden Bienen erkennen und entsprechend reagieren können (De Luca & Vallejo-Marín, 2013; Mishra *et al.*, 2016). Damit scheinen sich Hinweise auf akustische Kommunikation bei Pflanzen-Tier-Interaktionen zu bestätigen (Schöner *et al.*, 2016). Zum Beispiel haben sich einige fledermausabhängige Pflanzen an deren Echoortungssysteme angepasst, indem sie akustische Reflektoren bereitstellen, um ihre tierischen Partner bei der Orientierung zu unterstützen (Schöner *et al.*, 2015). Diese Studien zeigen auf, warum die Wahrnehmung von Geräuschen ein evolutionär vorteilhaftes Anpassungsmerkmal für Pflanzen sein könnte (Mishra *et al.*, 2016). Eine Studie geht noch einen Schritt weiter und weist auf die Möglichkeit hin, dass Pflanzen selber Schallwellen produzieren und für die Kommunikation mit anderen Pflanzen nutzen könnten (Gagliano *et al.*, 2012). Akustische Signalisierung könnte möglicherweise die erste Verteidigungslinie gegen Pflanzenfresser sein oder eine Warnung an Nachbar-Pflanzen gegen eine bevorstehende Wasserknappheit (Mishra *et al.*, 2016). Schallvibrationen können bei Blütenpflanzen den Gehalt an löslichen Polyaminen und Zuckern erhöhen, die Ausrichtung von Proteinstrukturen beeinflussen, die Aktivität verschiedener Proteine modifizieren und die Transkription bestimmter Gene regulieren (Hongbo *et al.*, 2008). Bei Chinakohl und Gurken, die Ultraschall, klassischer Musik oder lauten Geräuschen ausgesetzt waren, stieg der Gehalt an Polyaminen signifikant an. Die beobachteten Anstiege waren grösser bei den Pflanzen, die musikalischen Klängen ausgesetzt waren (Qin *et al.*, 2003). Bemerkenswert ist, dass mehrere durch Berührung regulierte Gene durch eine Schallbehandlung ebenfalls hochreguliert wurden, was auf eine mögliche molekulare Wechselwirkung zwischen den beiden mechanischen Reizen, Schall und Berührung, hindeutet (Ghosh *et al.*, 2016).

In den Pflanzenwissenschaften gibt es immer noch grosse Vorbehalte hinsichtlich der Anwendung von Schallbehandlungen. So wird angezweifelt, dass Pflanzen den Schall überhaupt wahrnehmen können, obwohl es immer mehr Studien über die Reaktion auf verschiedene Wellenlängen des Schalls und die Reaktionen der verschiedenen Pflanzenarten gibt. Um die Aussagekraft der Studien zu erhöhen, sollte die Technologie zur Steuerung der Klangqualität, wie z.B. die Feinabstimmung, Modifizierung und Mischung von Klängen, unbedingt verbessert werden. Um die Suche nach geeigneten Klangqualitäten zu vereinfachen, ist es hilfreich, so-

nannte Biomarker zu verwenden, deren Expression, Modifikation oder Verteilung herbeigezogen werden kann um mehrere Parameter relativ einfach und objektiv zu vergleichen. Dies würde ermöglichen, den Schall zu optimieren, um die schallspezifische Stressreduzierung bei Pflanzen zu maximieren oder um das Pflanzenwachstum zu optimieren (Jung *et al.*, 2018).

Ein bis anhin noch wenig erforschtes Gebiet ist der Einfluss einer Schallbehandlung auf das Mikrobiom der Pflanzen, dem eine zentrale Rolle bei der Pflanzengesundheit und zur Bekämpfung von Krankheitserregern zukommt. In einer Studie mit Weinreben bewirkte eine Schallbehandlung eine Verschiebung des Mikrobioms der Phyllosphäre (Wassermann *et al.*, 2021).

Wirkung auf Mikroorganismen

Die Erforschung der Mechanismen der Anpassung und Resistenz mikrobieller Populationen gegenüber verschiedenen Umweltfaktoren ist in den Mittelpunkt der modernen mikrobiellen Ökologie und der Molekulärökologie gerückt. In allen Ökosystemen spielen Mikroben als Primärproduzenten der Biosphäre eine wichtige Rolle. Angesichts des zunehmend ernstesten Problems der akustischen Umweltverschmutzung wurden jedoch nur sehr wenige Anstrengungen unternommen, um die Beziehung zwischen einzelligen Organismen und der Einwirkung von Schallfeldern zu untersuchen (Gu *et al.*, 2016).

Einzeller zeichnen sich durch ihre enorme Fähigkeit zur Interaktion und Anpassung an ihre Umgebung aus. Zu diesem Zweck haben sie verschiedene Mechanismen entwickelt, um sowohl chemische als auch physikalische Reize zu erkennen und auf diese Reize auf sehr unterschiedliche Weise zu reagieren. Heute kennen wir die molekulare Basis der meisten dieser Erkennungs- und Reaktionsmechanismen recht gut. Es ist jedoch sehr wenig darüber bekannt, ob Einzeller in der Lage sind, einen der häufigsten physikalischen Reize in der Umwelt zu erkennen und darauf zu reagieren, nämlich die Schallwellen im Audiofrequenzbereich (20–20000 Hz). Die wenigen bisherigen Daten über die Auswirkungen von hörbaren Schallwellen auf die Entwicklung von Mikroorganismen sind nicht ausreichend belegt und die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen für die Erkennung dieser Reize sind erst ansatzweise bekannt (García Lopez, 2021). In der Zellmembran von Bakterien sind – wie bei den Pflanzen – mechano-sensitive Kanäle weit verbreitet. Sie könnten als «Sensoren» und «Effektoren» der Zelle für mechanische Stimulation wirken (Martinac, 2011). Wenn Schallwellen die Oberfläche der Zellmembran durchdringen, öffnen sich die mechano-



Abb. 2 | Bei grösseren Laiben erfolgt die Schallübertragung über den Käsedeckel. (Foto: Agroscope)

sensitiven Kanäle, was dazu führt, dass kleinere Moleküle und Ionen wie H_2O , Na^+ , K^+ und Ca^{2+} die Zellmembran frei passieren können. Bakterienzellen könnten die Schallreize durch mechano-sensitive Kanäle wahrnehmen und physikalische Reize durch den Zufluss von Ca^{2+} in biologische Signale umwandeln (Booth *et al.*, 2007). Es ist auch denkbar, dass es die Verbiegung der Membran ist, welche zum biologischen Signal führt. Da es immer Membranbereiche gibt, welche nicht senkrecht zur Schallwelle stehen, wird das auch immer zu einer Verbiegung führen. Allenfalls könnten auch Rezeptor-Seitenketten ausserhalb der Membran auf die Welle reagieren.

Hörbarer Klang in Form von Musik kann Wachstum, Stoffwechsel und Antibiotika-Empfindlichkeit von Bakterien (Prokaryoten) und Hefen (Eukaryoten) beeinflussen (Sarvaiya & Kothari, 2015). Experimente mit *Bacillus* spp. weisen darauf hin, dass Schallwellen auch als wachstumsregulierende Signale zwischen den Zellen wirken können. Diese interzelluläre Signalübertragung scheint in einer Vielzahl von Bakterien zu funktionieren (Matsushashi *et al.*, 1998; Norris & Hyland, 1997). Die Mechanismen, die an der Erzeugung und Wahrnehmung von Schallwellen bei bestimmten Frequenzen beteiligt sind, werden bislang nicht verstanden. Zellen emittieren und

nehmen Töne bei Wellenlängen wahr, die die Grösse der Zelle übersteigen. Töne könnten durch wiederholte Ausdehnung und Kontraktion erzeugt werden. Dies könnte durch die Nutzung intrazellulärer Strukturen erreicht werden. Es ist denkbar, dass eine externe Beschallung diese interzelluläre Kommunikation zu stören vermag (Matsushashi *et al.*, 1998). Eine andere Hypothese ist, dass Ribosomen aufgrund ihrer Häufigkeit und ihres Energieverbrauchs eine führende Rolle bei der Aussendung und dem Empfang von Signalen spielen könnten (Norris & Hyland, 1997). Mikrobielle Zellen können offenbar mehr Energie absorbieren, wenn die Frequenz der eintreffenden Schwingung mit ihrer natürlichen Schwingungsfrequenz übereinstimmt (Reguera, 2011).

Die Produktion der durch Quorum Sensing regulierten Pigmente Prodigiosin und Violacein wurde durch die Schallbehandlung deutlich beeinflusst (Shah *et al.*, 2016). Als Quorum Sensing wird die Fähigkeit von Einzellern bezeichnet, über chemische Kommunikation mittels hoch spezifischer Signalmoleküle die Zelldichte der Population der eigenen Art und die Komplexität der Gemeinschaft messen zu können. Klassische indische Musik (Raag Malhar), deren Klang einem Frequenzbereich von 41–645 Hz entspricht, führte bei allen Bakterien und Hefen, die als Testorganismen verwendet wurden, zu

einem besseren Wachstum, mit Ausnahme von *Serratia marcescens*. Es wurde auch festgestellt, dass die Musikbehandlung die Produktion von bakteriellen Pigmenten fördert, deren Produktion normalerweise mit dem Quorum Sensing verbunden ist. Die Membrandurchlässigkeit der Testorganismen schien sich durch die Musikbehandlung zu verändern. Die Konzentration von Kationen (Kalzium und Kalium) und der Proteingehalt der mit Musik behandelten Kulturen unterschieden sich ebenfalls deutlich von der unbehandelten Kontrolle (Kothari, 2017). In einer indischen Studie mit Schallbehandlungen im hörbaren Bereich wurde beobachtet, dass *Escherichia coli* bei 432 Hz ein höheres Wachstum aufweist als ohne Ton, während bei 4 kHz der Fall genau umgekehrt war. Gleichzeitig konnte beobachtet werden, dass der Testorganismus bei 432 Hz empfindlicher auf Antibiotika reagierte als ohne Schall, während er bei 4 kHz anscheinend eine gewisse Resistenz gegen das eingesetzte Antibiotikum entwickelte. Die intrazelluläre Konzentration von Kationen (Kalzium und Kalium) und der Proteingehalt der schallbehandelten Kulturen unterschieden sich ebenfalls deutlich von der unbehandelten Kontrolle (Banerjee *et al.*, 2018).

In einer kleinen Vorstudie konnte gezeigt werden, dass die Milchsäuregärung von Rohmischkulturen (RMK) durch die Beschallung mit Musik statistisch signifikant verlangsamt werden kann, wenn auch die Unterschiede klein waren (Galli, 2021). RMK werden bei den traditionellen Schweizer Hart- und Halbhartkäsen sehr breit eingesetzt, bestimmen massgebend die Käsequalität mit und verfügen über eine bedeutende Biodiversität. Es ist plausibel, dass die Schallbehandlung das Wachstum gewisser Stämme zulasten anderer fördert, was sich in der Folge auch auf die Reifungsvorgänge im Käse auswirken könnte.

Ultraschall niedriger Intensität

Ultraschallwellen sind oszillierende Schalldruckwellen mit einer Frequenz grösser als 20 kHz, welche die obere Grenze des menschlichen Hörbereichs darstellt. Die Unterscheidung zwischen hörbarem Schall und nicht-hörbarem Ultraschall ist demnach sinnvoll, wenn es um Wirkungen auf den Menschen geht. Bei Pflanzen und Mikroorganismen gibt es diese scharfe Abgrenzung nicht. Ultraschall wird je nach Frequenz- und Anwendungsbereich in drei Kategorien unterteilt werden: (i) Leistungsuptraschall (20–100 kHz); (ii) Hochfrequenz oder erweiterter Bereich für die Sonochemie (20 kHz–2 MHz) und (iii) diagnostischer Ultraschall (> 1 MHz). Letzter hat wegen der geringen Leistung keine negativen Auswirkungen auf Zellen und Materialien (Dahroud *et al.*,

2016). Leistungsstarker Ultraschall mit einer Frequenz von 20 oder 40 kHz und einer Energie, die ausreicht, um akustische Kavitation zu erzeugen, wird in der Mikrobiologie als Standardtechnik für die Zerstörung lebender Zellen eingesetzt, um deren Inhalt freizusetzen (Amabilis-Sosa *et al.*, 2018; Ojha *et al.*, 2017). Hochleistungsultraschall bewährt sich zunehmend auch bei der Haltbarmachung von Lebensmitteln (Kannan *et al.*, 2021). Es ist möglich, die Schallenergie, die in eine Zellsuspension eindringt, zu modifizieren und damit die Auswirkungen der Kavitation zu verringern, indem entweder die Dauer der Exposition, die Schallleistung oder die Frequenz des Ultraschalls verändert wird. Auswirkungen geringer Intensität sind in erster Linie das Ergebnis von Mikroströmungen und akustischen Strömungen. Unter Bedingungen, bei denen keine oder nur geringe Kavitationsschäden auftreten, wurden verschiedene positive Auswirkungen festgestellt:

- Verbesserung der mikrobiellen Reaktionen (z. B. Fermentation)
- Aktivierung von Enzymen bei enzymmodulierten Reaktionen
- verstärkter Transfer von Materialien durch die Zellmembran (Sonoporation).

Aus der Sicht der Anwendung lässt sich Ultraschall grob in Beschallung mit niedriger Intensität (<1 W/cm²) und hoher Intensität (10–1000 W/cm²) unterteilen. Die Arbeit mit Ultraschall geringerer Intensität auf einem subletalen Niveau ist ein aufregender neuer Forschungsbereich. Zellen können bei Ultraschallbeschallung mit niedriger Intensität zum Teil besser wachsen, weil der Transport kleiner Moleküle in Lösung erhöht wird. Der Impuls der sich ausbreitenden Schallwellen wird auf die Flüssigkeit übertragen, wodurch die Flüssigkeit in die Richtung der Schallausbreitung fließt. Zudem bewirken die Zyklen von niedrigem und hohem Schalldruck, dass sich die Gasblasen ausdehnen und zusammenziehen, was wiederum eine Scherströmung um die oszillierenden Blasen erzeugt (Starritt *et al.*, 1989). Niederfrequenter Ultraschall (20–50 kHz) kann den Verlauf der Fermentation beeinflussen, indem er den Stoffaustausch und die Zellpermeabilität verbessert, was zu einer höheren Prozesseffizienz und Produktionsrate führt. Er kann auch zur Beseitigung von Mikroorganismen eingesetzt werden, die sonst den Prozess behindern könnten (Ojha *et al.*, 2017). In speziellen Sonobioreaktoren wird Ultraschall eingesetzt um die mikrobiellen Produktivität zu steigern (Chisti, 2003).

Eine neue interessante Anwendung ist die Verwendung von Ultraschall niedriger Intensität, um die metabolische Aktivität von Milchsäurebakterien zu verbessern. In einer iranischen Studie mit *Lactocaseibacillus casei* konnte nach einer Behandlung mit Ultraschall niedriger Intensität ein bemerkenswerter Anstieg der Milchsäureproduktion, Biomasseproduktion, Zellproliferation, Zellmembranpermeabilität und Proteolyse gemessen werden, ohne signifikante Auswirkungen auf die Zellmorphologie (Dahroud *et al.*, 2016). Mittels ultraschallunterstützter (28 kHz, 100 W) Fermentation von Magermilch durch *Lactocaseibacillus paracasei* konnte im Vergleich zu nicht beschallten Proben ein um 64 % höherer Peptidgehalt erreicht werden (Huang *et al.*, 2019). Die Autoren vermuteten, dass der Mechanismus der ultraschallaktivierten Erhöhung des Peptidgehalts in den extrazellulären Enzymaktivitäten liegen könnte, die unmittelbar durch den Ultraschall aktiviert werden und deren Wirkung im weiteren Verlauf der Fermentation verschwindet, nachdem der Ultraschall entfernt wurde. Ultraschall niedriger Intensität (24 kHz, 400 W) wirkte sich positiv auf das Wachstum und die fermentativen Aktivitäten von *Leuconostoc mesenteroides* (Shokri *et al.*, 2020a) und *Lactococcus lactis subsp. lactis* (Shokri *et al.*, 2020b) aus. Die Ultraschallbehandlung einer Joghurtkultur bei 84 W für 150 s führte zu einer um ca. eine Zehnerpotenz höheren Keimzahl im Vergleich zur unbehandelten Kultur sowie einer Verkürzung der Fermentationszeit um bis zu 30 min. (Barukčić *et al.*, 2015). Niederfrequenz-Ultraschall führte zu einer Stimulierung von Probiotika (z.B. *Bifidobacterium sp.*) mit einer beschleunigten Laktosehydrolyse und Transgalaktosylierung in Milch und einer verkürzten Fermentationszeit (Nguyen *et al.*, 2012). Die zum Teil widersprüchlichen Ergebnisse der verschiedenen Studien zeigen, dass die Wirkung der Beschallung spezies- oder sogar stammspezifisch ist und auf Unterschiede wie z.B. die Dicke oder Zusammensetzung der Zellwand oder die Zellgröße zurückzuführen ist. Mikroben mit einer dickeren und weicherer Kapsel sind sehr resistent gegenüber niederfrequentem Hochleistungs-Ultraschall (Gao *et al.*, 2014). Im Allgemeinen sind grampositive Bakterien im Vergleich zu gramnegativen Bakterien widerstandsfähiger gegen Ultraschall, möglicherweise, weil grampositive Bakterienzellen eine dickere und robustere Zellwand besitzen (Monsen *et al.*, 2009). Es wird vermutet, dass reversible Poren die Membrandurchlässigkeit erhöhen und dadurch der Transport essentieller Nährstoffe durch die Zellmembranen beschleunigt wird (Ojha *et al.*, 2017). Die Membranpermeabilität erhöhte sich nach der Ultraschallbehandlung um 3–22 % (Shokri *et al.*, 2020b). Die Effekte waren ab-

hängig von den Amplituden und der Behandlungszeit. Andere Autoren erklären die Wirkung von Ultraschall mit einer Erhöhung der Enzym/Substrat-Affinität und einer dadurch erhöhten Reaktionsgeschwindigkeit der Hydrolyse (Singh *et al.*, 2015).

Die Behandlung mit Ultraschall niedriger Energie ist auch in der Pflanzenforschung ein vielversprechendes Feld (da Silva & Dobránszki, 2014). So wurde Ultraschall erfolgreich zur Verbesserung der *Agrobacterium*-vermittelten Transformation verschiedener Pflanzen wie Sojabohne (*Glycine max*), Augenbohne (*Vigna unguiculata*), Weichweizen (*Triticum aestivum*) und Mais (*Zea mays*) eingesetzt. Die Agrobakterien-vermittelte Transformation ist eine der am häufigsten verwendeten Methoden, um neue Gene in Pflanzenzellen zu transportieren und stabil in deren Genom einzubauen (Trick & Finer, 1997).

Einfluss auf Qualität und Sicherheit von Käse

Geht man davon aus, dass Schallwellen sich auf Pflanzen und Mikroorganismen auswirken können, ist es naheliegend anzunehmen, dass auch Effekte auf Lebensmittel, im Speziellen auf fermentierte Lebensmittel, möglich sind. So wird beispielsweise Niederfrequenz-Ultraschall bereits für die Reifung und Alterung von Wein eingesetzt (Tao *et al.*, 2014).

Die Wirkung von Ultraschallwellen und Wellen im hörbaren Bereich auf Mikroorganismen und in der Folge auf die Käsequalität wurde in mehreren Studien untersucht. Der Einfluss von mikrobiellen Kulturen, die mittels einer Ultraschallbehandlung geschwächt («attenuated») und zusätzlich zur Starterkultur zugegeben werden, auf die Käsequalität ist mehrfach beschrieben. Häufig konnte damit eine höhere Aktivität von Peptidasen, eine höhere Konzentration an freien Aminosäuren und ein intensiveres Aroma bei der sensorischen Prüfung erreicht werden (Khattab *et al.*, 2019).

Bei einer Zusammenarbeit von Studenten der Hochschule für Künste Bern (HKB) und dem Käsehaus K3 (Käse, Kultur, Küblerei) in Burgdorf im Rahmen der Aktion «HKB geht an Land», entstand die Idee, mithilfe von Musik die Reifung von Käse zu beeinflussen (Abb.2). In diesem international viel beachteten Tastversuch konnten sensorische Unterschiede zwischen den Käsen festgestellt werden, wobei der mit Hip-Hop Musik beschallte Laib am besten bewertet wurde (Pauli, 2019). Es bleibt anzumerken, dass der Versuchsaufbau wissenschaftlichen Ansprüchen nicht zu genügen vermochte (n=1), dies im Gegensatz zu den anderen zitierten Arbeiten. In den USA wurde 1959 ein Verfahren patentiert für die Schallbehandlung von Käsebruch (geschnittene

Labgallerte) im Ultraschallbereich (mit Piezokristallen als Signalwandler) und im hörbaren Bereich und knapp darüber, bis 50kHz, mit einem «magneto strictor device», vergleichbar mit dem Antrieb eines handelsüblichen Lautsprechers. Die Schallbehandlung begünstigte das Wachstum gewisser Bakterien zulasten anderer und erhöhte die Freisetzung von Aminosäuren bei der Proteolyse. Leistungsmässig wurde ein Optimum von 0,1–1 Wattstunden pro Pfund (454g) Käsebruch bestimmt (kein Effekt unter 50mWh, keine zusätzlichen Effekte über 25Wh). Das Patent erwähnt physikalisch-chemische Effekte wie Proteinaggregatauflösung als mögliche Gründe (Winder & Swanson, 1959).

Die Lebensmittelsicherheit von nicht-pasteurisierten Lebensmitteln, wie z.B. Käse aus roher und thermisierter Milch wird über die sogenannte Hürdentechnologie gewährleistet (Bachmann & Spahr, 1995). Es stellt sich die Frage, ob eine Schallbehandlung als weitere Hürde die Lebensmittelsicherheit erhöhen könnte. Bei *Staphylococcus aureus* verringerten gepulste Schallwellen niedriger Intensität die Anzahl der Bakterienkolonien im Vergleich zu Bakterien, die nicht beschallt wurden (Ayan et al., 2008). Die Autoren folgerten, dass Schallwellen eine prophylaktische Massnahme zur Vermeidung von Infektionen bei orthopädischen Primäreingriffen und eine ergänzende Therapie bei Infektionen sein könnten. Im Gegensatz dazu wurde in einer anderen Studie das Wachstum von *E. coli* bei allen getesteten Frequenzen (1, 5 und 15kHz) gefördert (Ying et al., 2009). Insbesondere der Ton von 5kHz führte zu einem signifikanten Anstieg der Zellzahl. Da die Temperatur in der akustischen Kammer bei $24 \pm 2^\circ\text{C}$ konstant gehalten wurde, kann die Wirkung auf *E. coli* nicht alleine mit thermischen Effekten erklärt werden. In einer weiteren Studie (Gu et al., 2016) wiesen *E. coli* K-12, die Schallwellen exponiert wurden, eine höhere Biomasse und eine schnellere spezifische Wachstumsrate im Vergleich zur Kontrollgruppe. Ausserdem nahm die durchschnittliche Länge der *E. coli* K-12 Zellen um mehr als 27% zu. Die maximale Biomasse und die maximale spezifische Wachstumsrate der Stimulationsgruppe wurde erreicht mit 8kHz, 80dB Schallwellen und war etwa 1,7 mal bzw. 2,5 mal so hoch wie die der Kontrollgruppe. *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Escherichia coli* wuchsen in Gegenwart von niederfrequentem Ultraschall (70kHz) mit niedriger Schallintensität ($< 2\text{W}/\text{cm}^2$) schneller als ohne Ultraschall. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass Ultraschall die Transportrate von Sauerstoff und Nährstoffen zu den Zellen und die Transportrate von Abfallprodukten von den Zellen weg erhöht und so das Zellwachstum fördert (Pitt & Ross, 2003).

Die verfügbaren Studien deuten darauf hin, dass zwischen verschiedenen Stämmen derselben Art, Arten derselben Gattung und Gattungen derselben Familie signifikante Unterschiede bei den biologischen Wirkungen bestehen, die durch Schallstimulation hervorgerufen werden. Es gibt demnach offenbar keine gerichtete Wirkung einer Schallbehandlung auf potenziell pathogene Mikroorganismen (Gu et al., 2016).

Allgemein gibt es erhebliche Unterschiede in den Methoden und zelltypspezifischen Ergebnissen, was es schwierig macht, ein systematisches Muster in den Ergebnissen zu finden. In einem aktuellen Review schlagen die Autoren vor, bei künftigen Experimenten folgende Punkte zu berücksichtigen: (1) eine kontrollierte akustische Umgebung, (2) standardisierte Schall- und Geräuschmessmethoden und (3) eine umfassendere Palette kontrollierter Schallparameter als Zellstimuli (Kwak et al., 2022).

Schlussfolgerungen

Obwohl zunehmend mehr Studien darauf hindeuten, dass Schallwellen einen relevanten Einfluss auf die Physiologie von Pflanzen und Mikroorganismen haben können, sind die verfügbaren Erkenntnisse nur vorläufig und unzureichend, um viele Fragen auf zellulärer Ebene zu beantworten. Die Ergebnisse sind oft widersprüchlich, da es sehr grosse Unterschiede gibt, wie eine einzelne Spezies auf Schall reagiert und die Reaktion ist zudem stark abhängig vom Ökosystem, indem sich diese Spezies befindet. Noch gibt es eine grosse Lücke in unserem Verständnis der zellulären Ereignisse, die durch Schallstimulation in Pflanzen und Mikroorganismen ausgelöst werden, was weitere Studien bedingt. Die fehlende Standardisierung der Schall-Betriebsbedingungen, d. h. der Schallfrequenzen und -intensitäten, erschwert den Vergleich zwischen Studien.

Die Behandlung mit Ultraschall geringerer Intensität auf einem subletalen Niveau ist ein vielversprechender neuer Forschungs- und Anwendungsbereich. Zellen können bei Ultraschallbeschallung mit niedriger Intensität zum Teil besser wachsen, weil der Transport kleiner Moleküle in Lösung erhöht wird. Ein beschränktes Mass an Sonoporation (= Bildung von Hohlräumen oder Poren in der Zellmembran aufgrund von Beschallung) ist reversibel und kann den Stofftransport von Substraten oder Reagenzien durch die Zellmembran und die Entfernung von Nebenprodukten des zellulären Stoffwechsels und somit das Zellwachstum verbessern. Höhere Grade der Sonoporation kann hingegen irreversibel werden und zum Austreten von Zellinhalten führen, da die Lipiddop-

pelschicht der Zellmembran physisch unterbrochen und/oder verändert wird, was schliesslich zum Zelltod führt. Ein interessante Perspektive ist auch, dass Schallwellen Pflanzen, Pflanzen-Mikrobiome und Mikroorganismen darin unterstützen können, sich an veränderte Umweltbedingungen anzupassen. Wir sollten uns für dieses neu entstehende Gebiet der Pflanzen- und Mikrobiologie

begeistern. Es eröffnet uns eine neue Dimension für die Betrachtung der Pflanzen und Mikroorganismen als wahrnehmende Organismen: Sie sind offenbar doch viel sensibler und gelehriger für verschiedene Umweltreize, als wir gemeinhin denken. ■

Literatur

- Amabilis-Sosa, L. E., Vázquez-López, M., Rojas, J. L. G., Roé-Sosa, A., & Moeller-Chávez, G. E. (2018). Efficient Bacteria Inactivation by Ultrasound in Municipal Wastewater. *Environments*, 5(4). <https://doi.org/10.3390/environments5040047>
- Ayan, I., Aslan, G., Cömelekoğlu, U., Yilmaz, N., & Colak, M. (2008). The effect of low-intensity pulsed sound waves delivered by the Exogen device on *Staphylococcus aureus* morphology and genetics (In Turkish). *Acta Orthop Traumatol Turc*, 42(4), 272–277. <https://doi.org/10.3944/aott.2008.272> (Exogen cihazı kaynaklı düşük yoğunluklu ses dalgalarının *Staphylococcus aureus* morfolojisi ve genetiği üzerine etkileri.)
- Bachmann, H. P., & Spahr, U. (1995). The Fate of Potentially Pathogenic Bacteria in Swiss Hard and Semihard Cheeses Made from Raw Milk. *Journal of Dairy Science*, 78(3), 476–483. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(95\)76657-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76657-7)
- Banerjee, S., Goswami, A., Datta, A., Pyne, A., Nikhat, A., & Ghosh, B. (2018). Effect of Different Sound Frequencies on the Growth and Antibiotic Susceptibility of *Escherichia coli*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(03), 1931–1939. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.703.229>
- Barukčić, I., Lisak Jakopović, K., Herceg, Z., Karlović, S., & Božanić, R. (2015). Influence of high intensity ultrasound on microbial reduction, physico-chemical characteristics and fermentation of sweet whey. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 27, 94–101. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.10.013>
- Blackman, F. F. (1907). Plant Response as a Means of Physiological Investigation. *Nature*, 75(1944), 313–315. <https://doi.org/10.1038/075313a0>
- Booth, I. R., Edwards, M. D., Black, S., Schumann, U., & Miller, S. (2007). Mechanosensitive channels in bacteria: signs of closure? *Nature Reviews Microbiology*, 5(6), 431–440. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1659>
- Chehab, E. W., Eich, E., & Braam, J. (2009). Thigmomorphogenesis: a complex plant response to mechano-stimulation. *J Exp Bot*, 60(1), 43–56. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern315>
- Chisti, Y. (2003). Sonobioreactors: using ultrasound for enhanced microbial productivity. *Trends in Biotechnology*, 21(2), 89–93. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(02\)00033-1](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(02)00033-1)
- Choi, B., Ghosh, R., Gururani, M. A., Shanmugam, G., Jeon, J., Kim, J., Park, S.-C., Jeong, M.-J., Han, K.-H., Bae, D.-W., & Bae, H. (2017). Positive regulatory role of sound vibration treatment in *Arabidopsis thaliana* against *Botrytis cinerea* infection. *Scientific Reports*, 7(1), 2527. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02556-9>
- da Silva, J. A. T., & Dobránszki, J. (2014). Sonication and ultrasound: impact on plant growth and development. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 117(2), 131–143. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0429-0>
- Dahroud, B. D., Mokarram, R. R., Khiabani, M. S., Hamishehkar, H., Bialvaei, A. Z., Yousefi, M., & Kafil, H. S. (2016). Low intensity ultrasound increases the fermentation efficiency of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC 39392. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 462–467. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.103>
- De Luca, P. A., & Vallejo-Marín, M. (2013). What's the 'buzz' about? The ecology and evolutionary significance of buzz-pollination. *Current Opinion in Plant Biology*, 16(4), 429–435. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.05.002>
- Exbrayat, J., & Brun, C. (2019). Some Effects of Sound and Music on Organisms and Cells: A Review. *Annual research & review in biology*, 1–12. <https://doi.org/10.9734/arrrb/2019/v32i230080>
- Gagliano, M., Renton, M., Duvdevani, N., Timmins, M., & Mancuso, S. (2012). Acoustic and magnetic communication in plants: Is it possible? *Plant signaling & behavior*, 7(10), 1346–1348. <https://doi.org/10.4161/psb.21517>
- Galli, P. (2021). *Beschallung von Milchsäuregärungen - Einfluss einer Beschallung auf die Stoffwechsellätigkeit von zwei Kulturenmischungen* (Semesterarbeit, Issue HAFL Zollikofen).
- Gangrade, A. (2012). The Effect of Music on the Production of Neurotransmitters, Hormones, Cytokines, and Peptides: A Review. *Music and Medicine*, 4, 40–43. <https://doi.org/10.1177/1943862111415117>
- Gao, S., Lewis, G. D., Ashokkumar, M., & Hemar, Y. (2014). Inactivation of microorganisms by low-frequency high-power ultrasound: 1. Effect of growth phase and capsule properties of the bacteria. *Ultrason Sonochem*, 21(1), 446–453. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.06.006>
- Garcia Lopez, J. L. (2021). *How bacteria detect sound waves in the audio frequency range?* <https://www.cib.csic.es/project/how-bacteria-detect-sound-waves-audio-frequency-range>
- Ghosh, R., Mishra, R. C., Choi, B., Kwon, Y. S., Bae, D. W., Park, S. C., Jeong, M. J., & Bae, H. (2016). Exposure to Sound Vibrations Lead to Transcriptomic, Proteomic and Hormonal Changes in *Arabidopsis*. *Sci Rep*, 6, 33370. <https://doi.org/10.1038/srep33370>
- Gu, S., Zhang, Y., & Wu, Y. (2016). Effects of sound exposure on the growth and intracellular macromolecular synthesis of *E. coli* k-12. *PeerJ*, 4, e1920. <https://doi.org/10.7717/peerj.1920>
- Haswell, E. S., Phillips, R., & Rees, D. C. (2011). Mechanosensitive channels: what can they do and how do they do it? *Structure*, 19(10), 1356–1369. <https://doi.org/10.1016/j.str.2011.09.005>
- Hongbo, S., Biao, L., Bochu, W., Kun, T., & Yilong, L. (2008). A study on differentially expressed gene screening of *Chrysanthemum* plants under sound stress. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 329–333. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.02.007>
- Huang, G., Chen, S., Tang, Y., Dai, C., Sun, L., Ma, H., & He, R. (2019). Stimulation of low intensity ultrasound on fermentation of skim milk medium for yield of yoghurt peptides by *Lactobacillus paracasei*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 51, 315–324. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.09.033>
- Jung, J., Kim, S. K., Kim, J. Y., Jeong, M. J., & Ryu, C. M. (2018). Beyond Chemical Triggers: Evidence for Sound-Evoked Physiological Reactions in Plants. *Front Plant Sci*, 9, 25. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00025>
- Kannan, G., Mahapatra, A. K., & Degala, H. L. (2021). Preharvest Management and Postharvest Intervention Strategies to Reduce *Escherichia coli* Contamination in Goat Meat: A Review. *Animals*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/ani11102943>

- Khattab, A. R., Guirguis, H. A., Tawfik, S. M., & Farag, M. A. (2019). Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends in Food Science & Technology*, **88**, 343–360. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.009>
- Kothari, V. (2017). Audible Sound in Form of Music Can Influence Microbial Growth, Metabolism and Antibiotic Susceptibility. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, **2**(6). <https://doi.org/10.15406/jabb.2017.02.00048>
- Kwak, D., Combriat, T., Wang, C., Scholz, H., Danielsen, A., & Jensenius, A. R. (2022). Music for Cells? A Systematic Review of Studies Investigating the Effects of Audible Sound Played Through Speaker-Based Systems on Cell Cultures. *Music & Science*, **5**, 20592043221080965. <https://doi.org/10.1177/20592043221080965>
- López-Ribera, I., & Vicient, C. M. (2017). Drought tolerance induced by sound in Arabidopsis plants. *Plant signaling & behavior*, **12**(10), e1368938–e1368938. <https://doi.org/10.1080/15592324.2017.1368938>
- Martinac, B. (2011). Bacterial Mechanosensitive Channels as a Paradigm for Mechanosensory Transduction. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **28**(6), 1051–1060. <https://doi.org/10.1159/000335842>
- Matsuhashi, M., Pankrushina, A. N., Takeuchi, S., Ohshima, H., Miyoi, H., Endoh, K., Murayama, K., Watanabe, H., Endo, S., Tobi, M., Mano, Y., Hyodo, M., Kobayashi, T., Kaneko, T., Otani, S., Yoshimura, S., Harata, A., & Sawada, T. (1998). Production of sound waves by bacterial cells and the response of bacterial cells to sound. *The Journal of General and Applied Microbiology*, **44**(1), 49–55. <https://doi.org/10.2323/jgam.44.49>
- Mishra, R. C., Ghosh, R., & Bae, H. (2016). Plant acoustics: in the search of a sound mechanism for sound signaling in plants. *J Exp Bot*, **67**(15), 4483–4494. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw235>
- Mosen, T., Lövgren, E., Widerström, M., & Wallinder, L. (2009). In vitro effect of ultrasound on bacteria and suggested protocol for sonication and diagnosis of prosthetic infections [Article]. *Journal of Clinical Microbiology*, **47**(8), 2496–2501. <https://doi.org/10.1128/JCM.02316-08>
- Nguyen, T. M. P., Lee, Y. K., & Zhou, W. (2012). Effect of high intensity ultrasound on carbohydrate metabolism of bifidobacteria in milk fermentation. *Food Chemistry*, **130**(4), 866–874. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.108>
- Norris, V., & Hyland, G. J. (1997). Do bacteria sing? Sonic intercellular communication between bacteria may reflect electromagnetic intracellular communication involving coherent collective vibrational modes that could integrate enzyme activities and gene expression [<https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.3951756.x>]. *Molecular microbiology*, **24**(4), 879–880. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.3951756.x>
- Ojha, K. S., Mason, T. J., O'Donnell, C. P., Kerry, J. P., & Tiwari, B. K. (2017). Ultrasound technology for food fermentation applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, **34**, 410–417. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.001>
- Pauli, C. (2019). Käse beschallen – ein Experiment der Hochschule der Künste Bern HKB schreibt Mediengeschichte. *FH News*. <https://cheeseinsound.ch/>
- Pitt, W. G., & Ross, S. A. (2003). Ultrasound increases the rate of bacterial cell growth. *Biotechnology progress*, **19**(3), 1038–1044. <https://doi.org/10.1021/bp0340685>
- Qin, Y.-C., Lee, W.-C., Choi, Y.-C., & Kim, T.-W. (2003). Biochemical and physiological changes in plants as a result of different sonic exposures. *Ultrasonics*, **41**(5), 407–411. [https://doi.org/10.1016/S0041-624X\(03\)00103-3](https://doi.org/10.1016/S0041-624X(03)00103-3)
- Reguera, G. (2011). When microbial conversations get physical. *Trends in Microbiology*, **19**(3), 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2010.12.007>
- Sarvaiya, N., & Kothari, V. (2015). Effect of audible sound in form of music on microbial growth and production of certain important metabolites. *Microbiology*, **84**, 227–235. <https://doi.org/10.1134/S0026261715020125>
- Schöner, M., Schöner, C., Simon, R., Grafe, U., Puechmaille, S., Ji, L., & Kerth, G. (2015). Bats Are Acoustically Attracted to Mutualistic Carnivorous Plants. *Current Biology*, **25**, 1911–1916. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.05.054>
- Schöner, M. G., Simon, R., & Schöner, C. R. (2016). Acoustic communication in plant-animal interactions. *Curr Opin Plant Biol*, **32**, 88–95. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.06.011>
- Shah, A., Raval, A., & Kothari, V. (2016). Sound Stimulation Can Influence Microbial Growth and Production of Certain Key Metabolites. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, **5**(4), 330–334. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2016.5.4.330-334>
- Shokri, S., Shekarforoush, S. S., & Hosseinzadeh, S. (2020a). Efficacy of low intensity ultrasound on fermentative activity intensification and growth kinetic of *Leuconostoc mesenteroides*. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, **153**, 107955. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2020.107955>
- Shokri, S., Shekarforoush, S. S., & Hosseinzadeh, S. (2020b). Stimulatory effects of low intensity ultrasound on the growth kinetics and metabolic activity of *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*. *Process Biochemistry*, **89**, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.10.033>
- Singh, S., Agarwal, M., Bhatt, A., Goyal, A., & Moholkar, V. S. (2015). Ultrasound enhanced enzymatic hydrolysis of *Parthenium hysterophorus*: A mechanistic investigation. *Bioresource Technology*, **192**, 636–645. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.031>
- Starritt, H. C., Duck, F. A., & Humphrey, V. F. (1989). An experimental investigation of streaming in pulsed diagnostic ultrasound beams. *Ultrasound in Medicine & Biology*, **15**(4), 363–373. [https://doi.org/10.1016/0301-5629\(89\)90048-3](https://doi.org/10.1016/0301-5629(89)90048-3)
- Tao, Y., García, J. F., & Sun, D.-W. (2014). Advances in Wine Aging Technologies for Enhancing Wine Quality and Accelerating Wine Aging Process. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **54**(6), 817–835. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.609949>
- Trick, H. N., & Finer, J. J. (1997). SAAT: sonication-assisted Agrobacterium-mediated transformation. *Transgenic Research*, **6**(5), 329–336. <https://doi.org/10.1023/A:1018470930944>
- Vicient, C. M. (2017). The effect of frequency-specific sound signals on the germination of maize seeds. *BMC Research Notes*, **10**(1), 323. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2643-4>
- Wassermann, B., Korsten, L., & Berg, G. (2021). Plant Health and Sound Vibration: Analyzing Implications of the Microbiome in Grape Wine Leaves. *Pathogens*, **10**(1), 63. <https://doi.org/10.3390/pathogens10010063>
- Winder, W. C., & Swanson, A. M. (1959). *Method for ripening cheese* (USA Patent No. 2882164A)
- Ying, J. L., Dayou, J., & Phin, C. (2009). Experimental Investigation on the Effects of Audible Sound on the Growth of *Escherichia coli*. *Modern Applied Science*, **3**(3), 124–127. <https://doi.org/10.5539/mas.v3n3p124>