

# Les fleurs réagissent au son des pollinisateurs en quelques minutes en augmentant la concentration de sucre nectar

Marine Veits, Itzhak Khait, Uri Obolski, Eyal Zinger, Arjan Boonman, Aya Goldshtein, Kfir Saban, Udi Ben-Dor, Paz Estlein, Areej Kabat, Dor Peretz, Ittai Ratzersdorfer, Slava Krylov, Daniel Chamovitz, Yuval Sapir, Yossi Yovel, Lilach Hadany

doi : <https://doi.org/10.1101/507319>

Maintenant publié dans *Ecology Letters* doi: [10.1111/ele.13331](https://doi.org/10.1111/ele.13331)

## Abstrait

Les plantes peuvent-elles entendre? C'est-à-dire, peuvent-ils sentir les sons aériens et y répondre? Nous montrons ici que les fleurs d'*Oenothera drummondii*, exposées au son de lecture d'une abeille volante ou à des signaux sonores synthétiques à des fréquences similaires, produisaient un nectar plus sucré en 3 minutes, augmentant potentiellement les chances de pollinisation croisée. Nous avons constaté que les fleurs vibraient mécaniquement en réponse à ces sons, suggérant un mécanisme plausible où la fleur sert d'organe sensoriel auditif à la plante. La vibration et la réponse du nectar étaient spécifiques à la fréquence : les fleurs répondaient aux sons des pollinisateurs, mais pas aux sons de fréquence plus élevée. Nos résultats documentent pour la première fois que les plantes peuvent réagir rapidement aux sons des pollinisateurs d'une manière écologiquement pertinente. La sensibilité des plantes au son des pollinisateurs peut affecter les interactions plantes-pollinisateurs de nombreuses façons : les plantes pourraient allouer leurs ressources de manière plus adéquate, en se concentrant sur le moment de l'activité des pollinisateurs; les pollinisateurs seraient alors mieux récompensés par unité de temps; La forme de la fleur peut être choisie pour son effet sur la capacité auditive, et pas seulement sur la signalisation; Et les pollinisateurs peuvent évoluer pour produire des sons que les fleurs peuvent entendre. Enfin, nos résultats suggèrent que les plantes peuvent également être affectées par d'autres sons, y compris les sons antropogènes.

## Introduction

La capacité des plantes à sentir leur environnement et à y réagir est essentielle à leur survie. Réactions des plantes à la lumière (Jiao *et al.*, 2007; Chory 2010), la stimulation mécanique (De Luca & Vallejo-Marín 2013; Monshausen et Haswell, 2013; Appel et Cocroft, 2014) et les produits chimiques volatils (Arimura *et coll.*, 2000; Baldwin *et coll.*, 2006; Heil et Bueno, 2007; Karban *et coll.*, 2014; Karban, 2015) sont bien documentés. Cependant, la capacité des plantes à détecter et à répondre aux sons aériens - l'une des modalités de communication les plus largement utilisées dans le règne animal - n'a guère été étudiée (Chamovitz 2012; Gagliano *et coll.*, 2012; Hassanien *et coll.*, 2014). Des études récentes ont démontré des réactions lentes, comme des changements dans le taux de croissance des plantes, après une exposition à des stimuli acoustiques artificiels pendant des heures ou des jours (Takahashi *et al.*, 1991; Xiujuan *et coll.*, 2003; Yi *et coll.*, 2003; Bochu *et coll.*, 2004; Ghosh *et coll.*, 2016; Choi *et coll.*, 2017; Gagliano *et coll.*, 2017; Ghosh *et coll.*, 2017; Kim *et coll.*, 2017; López-Ribera & Vicient 2017; Jung *et coll.*, 2018). En revanche, à notre connaissance, une réaction rapide aux bruits aériens n'a jamais été signalée pour les plantes; La fonction biologique de la réaction des plantes aux bruits aériens n'a pas non plus été identifiée. Dans ce travail, nous avons cherché à tester les réponses rapides des plantes aux sons en suspension dans l'air dans le contexte des interactions plantes-pollinisateurs.

La grande majorité (87,5 %) des plantes à fleurs dépendent des pollinisateurs animaux pour se reproduire (Ollerton *et al.*, 2011). Chez ces plantes, attirer les pollinisateurs peut améliorer la condition physique des plantes et est obtenu en utilisant des signaux tels que la couleur, l'odeur et la forme, et par des récompenses

alimentaires de nectar et de pollen ([Willmer 2011](#)). L'augmentation de la qualité ou de la quantité des récompenses peut entraîner des visites plus longues chez les pollinisateurs ou une probabilité accrue qu'un pollinisateur visite une autre fleur de la même espèce dans un proche avenir, ce qui pourrait augmenter la valeur adaptative de la fleur en augmentant les chances de pollinisation et de reproduction ([Faegri et Van Der Pijl, 1979](#)). La production d'une récompense améliorée peut être coûteuse ([Pleasants et Chaplin, 1983](#); [Southwick, 1984](#); [Pyke, 1991](#); [Ordano & Ornelas 2005](#); [Ornelas et Lara, 2009](#); [Galetto et coll., 2018](#)) et les cultures de nectar sur pied sont sujettes à la dégradation par les microbes ([Herrera et al., 2008](#); [Vannette et coll., 2013](#)) ainsi qu'au vol qualifié ([Irwin et coll., 2010](#)), y compris les voleurs silencieux comme les fourmis ([Galen, 1999](#)). Ainsi, un mécanisme permettant de synchroniser la production d'une récompense accrue à un moment où les pollinisateurs sont susceptibles d'être présents pourrait être très bénéfique pour la plante. Ici, nous suggérons qu'une réponse des plantes au son d'un pollinisateur peut servir de mécanisme de synchronisation. Plus précisément, nous émettons l'hypothèse que les plantes pourraient réagir au son d'un pollinisateur volant en augmentant la récompense d'une manière qui augmenterait la probabilité de pollinisation et de reproduction par les mêmes pollinisateurs ou des pollinisateurs similaires.

Les battements d'ailes des pollinisateurs volants, y compris les insectes, les oiseaux et les chauves-souris, produisent des ondes sonores qui se déplacent rapidement dans l'air. Si les plantes étaient capables de recevoir de tels sons et d'y réagir rapidement, elles pourraient temporairement augmenter leur visibilité et / ou leur récompense lorsque des pollinisateurs sont susceptibles d'être présents, ce qui améliorerait l'allocation des ressources. Un organe végétal possible qui pourrait relayer le signal acoustique aéroporté dans une réponse est la fleur elle-même, en particulier dans les fleurs en forme de « bol ». Si tel est le cas, nous nous attendons à ce qu'une partie de la fleur (ou la fleur entière) vibre physiquement en réponse au son aérien d'un pollinisateur potentiel. Nous prévoyons en outre que la concentration de sucre nectar augmenterait en réponse au son. Aucune de ces prédictions n'a été testée auparavant. Pour tester ces prédictions, nous avons utilisé l'onagre de plage, *Oenothera drummondii*, dont les principaux pollinisateurs sont les papillons de nuit (la nuit et tôt le matin) et les abeilles (au crépuscule et le matin) ([Eisikowitch & Lazar 1987](#)). Nous avons mesuré la vibration des pétales et la concentration de sucre nectar en réponse aux sons. Nous avons analysé l'effet de différentes fréquences sonores, y compris les enregistrements de pollinisateurs et les sons synthétiques à des fréquences similaires et différentes. Nous montrons que les sons des pollinisateurs, et les signaux sonores synthétiques à des fréquences similaires, provoquent des vibrations des pétales et évoquent une réponse rapide – une augmentation de la concentration en sucre nectar de la plante.

## Matériaux et méthodes

### Généralités

Nous avons exposé les plantes d'*Oenothera drummondii* à différentes lectures sonores (voir ci-dessous) et mesuré la concentration de sucre dans leur nectar. Nous avons comparé la réponse des plantes à différents sons, y compris les enregistrements des pollinisateurs, les sons synthétiques dans les fréquences des pollinisateurs et dans des fréquences beaucoup plus élevées, et le silence. Pour déterminer si les sons de lecture entraînent une vibration physique des pétales de fleurs, nous avons utilisé la vibrométrie laser. Pour évaluer la répartition des pollinisateurs sur le terrain, nous avons effectué des observations sur le terrain.

### Installation expérimentale : mesure de la réponse du nectar de la plante sous différents traitements

La réponse au nectar a été testée dans quatre expériences différentes (voir le tableau S1 pour le résumé):  
Expérience 1a (n = 90 fleurs), où les plantes ont été cultivées à l'extérieur dans un environnement naturel, exposées à des conditions acoustiques naturelles, en été. La réponse a été testée aux traitements acoustiques (voir **Signaux sonores et lectures** pour plus de détails) : « Silence » – pas de lecture sonore, « Low » – lecture d'un signal sonore basse fréquence avec une énergie comprise entre 50 et 1000 Hz, couvrant la gamme des

fréquences de battement d'ailes des pollinisateurs, et « High » – lecture d'un signal sonore haute fréquence avec une énergie comprise entre 158 et 160 kHz. Ce traitement a servi de contrôle de l'effet potentiel du champ électromagnétique de l'orateur, qui était absent dans le traitement « Silence ». Expérience 1b (n = 167 fleurs), où les plantes ont été cultivées à l'intérieur en été, et la réponse a été mesurée aux trois stimuli précédents plus un stimulus « Abeille » - lecture des enregistrements d'une seule abeille en vol stationnaire avec une fréquence maximale de 200-500Hz; Expérience 2 (n = 298 fleurs), où les plantes ont été cultivées à l'intérieur à l'automne, et la réponse a été testée pour les stimuli « faible », « élevé » et « intermédiaire » - lecture d'un signal sonore avec une énergie comprise entre 34 et 35 kHz. Pour tester le rôle de la fleur elle-même (plutôt que d'autres parties de la plante exposées au son) dans la réponse, les traitements « Low » et « High » ont également été testés pour les fleurs contenues dans des bocaux en verre « Low in Jar » et « High in Jar »; et l'expérience 3 (n = 112 fleurs), où les plantes ont été cultivées à l'intérieur au printemps, et la réponse a été testée pour les stimuli « faibles » et « élevés ».

Dans chaque expérience, les plantes ont été numérotées, assignées au hasard à des traitements et testées dans un ordre aléatoire, en alternant entre les différents traitements. Différentes fleurs de la même plante n'ont jamais été testées dans la même journée, ni dans le même groupe de traitement. Pour mesurer la réponse d'une fleur, elle a été vidée de nectar et immédiatement exposée à l'un des traitements ci-dessus. Son nectar nouvellement produit a été extrait 3 minutes après le début du traitement (il a fallu attendre trois minutes pour que la quantité de nectar accumulée soit mesurable par réfractaire). La concentration en sucre et le volume de nectar ont été quantifiés avant et après le traitement (pour plus de détails, voir les méthodes **de mesure du nectar**, Fig. S1).

Dans la manipulation du pot, nous avons utilisé 6 pots en verre insonorisés identiques de 1 litre, rembourrés avec de la mousse isolante acoustiquement (voir Fig. S2). La capacité du pot à bloquer le son a été testée en plaçant un microphone calibré (GRAS, 40DP) à l'intérieur et en jouant la lecture « Low » à une distance de 10cm (comme dans l'expérience). Cette mesure a confirmé que les pots réduisaient l'intensité sonore de 14 dB.

## Signaux sonores et lectures

Dans les expériences sur le nectar, nous avons utilisé cinq signaux, y compris des enregistrements d'abeilles, trois stimuli sonores artificiels et le silence. Les stimuli sonores artificiels ont été générés à l'aide d'un logiciel acoustique (Avisoft, Saslablite). Le stimulus de fréquence « Basse » consistait en un signal sonore modulé en fréquence (FM) de 10s balayant de 1000Hz à 50 Hz, couvrant la gamme de fréquences du battement d'ailes des pollinisateurs naturels. Le stimulus « haute » consistait en un signal sonore modulé en fréquence de 10 secondes balayant de 160 à 158 kHz, une fréquence qui est clairement hors de portée pour le battement des ailes des pollinisateurs. Le stimulus de fréquence « intermédiaire » consistait en un signal sonore modulé en fréquence de 10s balayant de 35 à 34 kHz. Le stimulus « Bee » a été enregistré en positionnant un microphone calibré (GRAS, 40DP) et en enregistrant une abeille domestique individuelle (*Apis mellifera*) à une distance de 10 cm. Le traitement de contrôle « Silence » consistait en aucune lecture.

Les lectures acoustiques ont été effectuées à l'aide d'un convertisseur N/A (Player 216-2, Avisoft Bioacoustics) à une fréquence d'échantillonnage de 500 kHz. Tous les signaux ont été enregistrés à l'aide d'un microphone calibré avant la lecture pour valider leur intensité. L'intensité de la lecture dans les groupes intérieurs « Low », « Bee » et « Intermédiaire » a été réglée pour ressembler à l'intensité d'une abeille planant à 10 cm au-dessus de la plante, avec un niveau de pression acoustique de pointe d'environ 75 dB SPL par rapport à 20 µPa à une distance de 10 cm. Les lectures « faibles » dans le groupe extérieur avaient une pression de crête d'environ 95 dB SPL (par rapport à 20 µPa à 10 cm). Pour le contrôle, nous avons utilisé soit « Silence », où aucun son n'était joué, soit la lecture « High » qui avait une faible intensité (environ 55 dB SPL) mais servait de condition supplémentaire de type « Silence » contrôlant le champ électromagnétique, absente dans la commande « Silence ». Toutes les lectures ont été jouées en continu pendant 3 minutes dans tous les traitements, y compris le contrôle silencieux. Chaque lecture a été jouée à un groupe de 5-6 fleurs, planant au-dessus de chacune d'elles avec un haut-parleur pendant une période de 10 secondes chacune, revenant à la première fleur à la fin. Les haut-parleurs ont été déplacés de plante en plante pendant 3 minutes à une distance d'environ 10 cm de la

fleur la plus proche, imitant un pollinisateur planant autour d'un buisson. Ainsi, chaque fleur a été exposée à un son direct pendant  $33,8 \pm 0,3$  secondes en moyenne (nous avons validé que le nombre de fleurs par groupe n'avait aucun effet sur la signification des résultats, voir **Résultats**). Un tel mouvement des haut-parleurs a également été fait dans le traitement « Silence ». Dans les expériences intérieures et extérieures, toutes les lectures ont été effectuées à l'intérieur: les fleurs ont été amenées dans une pièce silencieuse et y ont été traitées.

Les expériences de vibration ont été réalisées avec des lectures d'une abeille (énergie de crête à 250-500Hz) et d'un papillon de nuit (énergie de crête à  $\sim 100$ Hz et aucune énergie supérieure à 400 Hz), et des tonalités pures aux fréquences de crête des signaux décrits ci-dessus: « Faible » (1kHz), « Intermédiaire » (35 kHz) et « Haute » (160 kHz).

## Mesures de nectar

Le nectar a été extrait de toutes les fleurs avant traitement à l'aide de tubes en PTFE (téflon) (diamètre extérieur = 0,9 mm, diamètre interne = 0,6 mm), suivi de capillaires jetables de 1  $\mu$ l pour le nectar restant après vidange par les tubes en téflon. Les traitements ont été appliqués immédiatement après l'extraction. Pour éviter les différences résultant de la variation des temps de vidange, nous avons laissé un capillaire à l'intérieur des premières fleurs vidées pour nous assurer qu'aucun nouveau nectar ne s'est accumulé. Lorsque la dernière fleur a été vidée, tous les capillaires ont été retirés et le traitement (« High », « Low », « Bee », « Intermediate » ou « Silence ») a commencé. Trois minutes plus tard, après la fin du traitement, le nectar a été tiré à nouveau de toutes les fleurs. La concentration de sucre dans chaque fleur a été mesurée par des réfractomètres calibrés Bellingham-Stanley à faible volume de nectar Eclipse (0-50 Brix), où les mesures de concentration sont précises dans des volumes aussi bas que 0,2  $\mu$ L. Trois minutes ont permis d'accumuler suffisamment de nectar dans chaque fleur (voir les figures S4B, S8B présentant les quantités de nectar) pour la mesure du réfractomètre.

## Surveillance des visites des pollinisateurs sur le terrain

Afin d'évaluer le schéma de fréquentation des pollinisateurs sur le terrain, deux séries d'observations sur le terrain ont été effectuées sur la plage de Tel Aviv. (a) Pour vérifier si la présence d'un pollinisateur peut indiquer la proximité d'autres pollinisateurs, nous avons filmé des plantes d'*Oenothera drummondii* pendant la nuit. 17 plantes ont été filmées pendant deux nuits pendant quatre heures après le coucher du soleil à l'été 2017, à l'aide de caméras vidéo IR (Full Spectrum POV Cam, GhostStop USA, résolution 1920 $\times$ 1080, 30 ips). Les caméras ont été placées à une distance de 1 à 1,5 m de l'usine. Les vidéos ont été examinées manuellement à l'aide de Matlab R2016a et du lecteur multimédia VLC 2.2.4. Un papillon passant à moins de 1 m d'une plante a été défini comme « près de la plante ». Nous avons ensuite analysé la distribution des intervalles entre ces événements (voir résultats). (b) Pour estimer le temps qu'un seul pollinisateur passe près d'une plante d'*Oenothera drummondii*, les plantes ont été observées visuellement pendant la journée, lorsqu'il était possible de suivre le même individu au fil du temps. 6 plantes ont été observées pendant quatre jours pendant trois heures par jour. Une abeille passant à moins de 20 cm d'une plante a été définie comme « près de la plante » et le temps qu'elle passait à cette distance a été estimé.

## Mesure de la vibration des pétales à l'aide de la vibrométrie laser

Pour déterminer si les sons de lecture entraînent une vibration physique des pétales de fleurs, nous avons utilisé la vibrométrie laser. Cette méthode permet de mesurer des vibrations physiques infimes par décalages Doppler d'un faisceau laser réfléchi par une surface vibrante. À cette fin, les fleurs ont été positionnées sur une sonde à plaquettes (Karl Suss PSM6, microscope Mitutoyo FS70L-S) et utilisées dans l'air ambiant. Le mouvement des pétales a été enregistré à l'aide d'un vibromètre laser Doppler (Polytec LDV, contrôleur OFV-5000). Le vibromètre fonctionnait en mode d'acquisition de vitesse à l'aide du décodeur de sortie de vitesse VD-02

(jusqu'à 1,5 MHz de bande passante). Le faisceau laser était focalisé sur la base du pétale (voir Fig. S3) en utilisant la lentille à longue distance x5 du microscope.

Les signaux du LDV ont été introduits dans l'oscilloscope KEYSIGHT DSOX2004A (70 MHz, mémoire 1 Mpts). Nous avons comparé les vibrations des fleurs en réponse à différentes fréquences de lecture et en l'absence de lecture (« Silence ») dans un plan expérimental apparié (au sein de la même plante). Pour valider que la présence de pétales était cruciale pour la vibration, nous avons également comparé la vibration des pétales dans les fleurs intactes à la vibration dans les pétales intacts des fleurs où certains des pétales ont été enlevés (voir Figs. S3).

$$\frac{2}{\pi f}$$

Pour mesurer l'amplitude réelle de vibration, nous subdivisons la vitesse mesurée par  $\frac{2}{\pi f}$ , où  $f$  est la fréquence de l'oscillation. Nous avons utilisé des modèles vibratoires d'objets ayant des formes similaires (à la fois une poutre et une plaque mince circulaire ([Blevins & Plunkett 1980](#)) pour estimer la fréquence de vibration de résonance de la fleur. La fréquence de résonance d'un objet est dictée par les propriétés du matériau, la géométrie et les conditions aux limites. Pour une taille de fleur de  $\sim 6$  cm et une épaisseur de  $\sim 0,4$  mm, nous avons estimé qu'une fréquence de mode fondamentale se situait entre 100 et 500 Hz. Une densité mesurée de  $\sim 230$  kg/m<sup>3</sup> et le module de Young de  $\sim 1$  MPa adopté de ([Watanabe & Ziegler 2013](#)) ont été utilisés dans les calculs.

## Plantes et conditions de croissance

*Les plantes d'Oenothera drummondii* ont été multipliées à partir de greffes de plantes prélevées sur la côte de Bet-Yanai, en Israël. Dans toutes les expériences, quelles que soient les conditions de croissance des plantes, la réponse des plantes à la lecture du son a été testée à l'intérieur, dans une pièce calme. Pour l'expérience 1a (« extérieur, été 2014 »), 200 plantes ont été placées dans des pots de 3 litres et cultivées dans les jardins botaniques de l'Université de Tel Aviv en plein air. Les boutons floraux ont été recouverts de filets un jour avant l'expérience, pour éviter la pollinisation et le retrait du nectar par les pollinisateurs. Pour l'expérience 1b (intérieur, été 2015), 100 plantes ont été placées dans des pots de 0,5 litre, pour l'expérience 2 (intérieur, automne 2016) 400 plantes ont été placées dans des pots de 1,1 litre et pour l'expérience 3 (intérieur, printemps 2016) 200 plantes ont été placées dans des pots de 0,5 litre. Les expériences 1b, 2 et 3 n'ont utilisé que des plantes cultivées en intérieur, car les plantes d'extérieur ne fleurissent qu'en été. Pour toutes les expériences en intérieur, les plantes ont été cultivées dans une salle de croissance contrôlée, à 27-28 degrés centigrades, avec 16 heures de lumière du jour artificielle, environ 1 mois avant le début de l'expérience. Au total, plus de 650 fleurs de ces 900 plantes ont été utilisées dans les expériences de nectar, et 200 autres fleurs dans les expériences laser (tirées des plantes des expériences 2 et 3). Dans chaque expérience, seules des plantes du même âge et de la même saison ont été testées. Voir le tableau S1 pour un résumé des expériences.

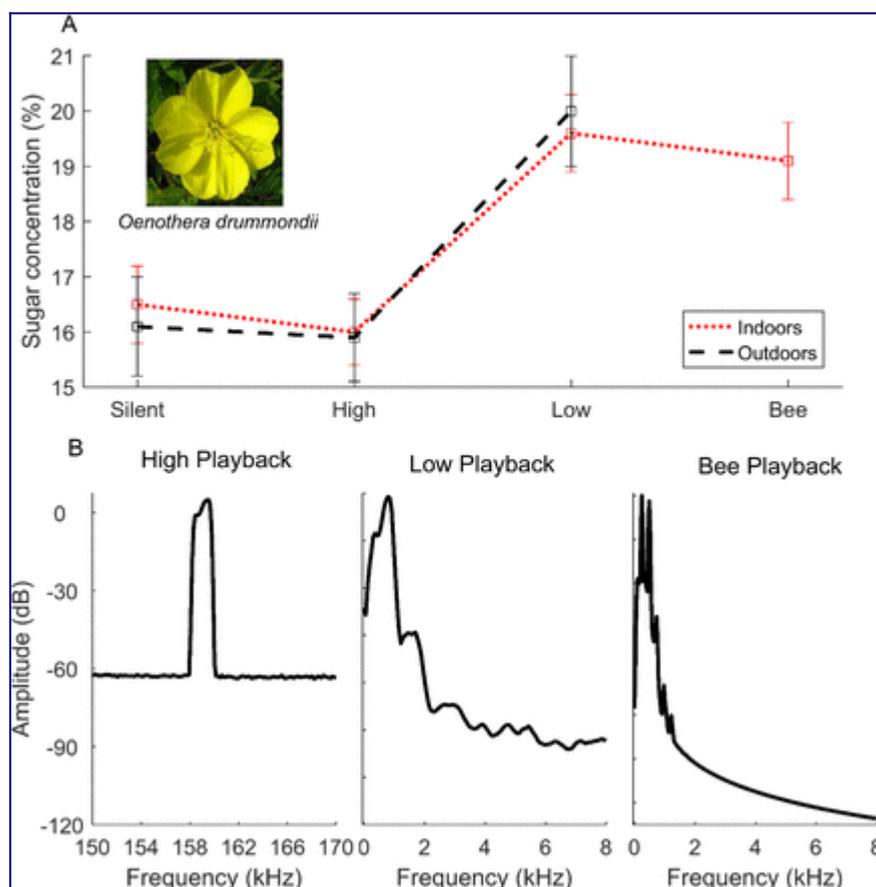
## Analyse statistique

Expérience 1 : Nous avons effectué une ANOVA bidirectionnelle sur la concentration logarithmique de sucre, y compris les variables de traitement (« Silence », « High », « Low » ou « Bee ») et de groupe (« intérieur » ou « extérieur »). La variable de groupe n'a pas eu d'effet significatif ( $P = 0,793$ ). Par conséquent, les données des deux groupes ont été combinées et la concentration de sucre et le volume de nectar entre différents traitements ont été comparés. Le test de Shapiro-Wilks a conclu à un écart significatif par rapport à la normalité ( $P < 0,05$ ) dans certains cas (données sur le volume de nectar), de sorte que la somme de rang de Wilcoxon a été utilisée pour la comparaison. Au sein des groupes, les valeurs  $p$  rapportées ont été ajustées pour les comparaisons multiples à l'aide de la méthode de Holm-Bonferroni.). Expérience 2: les caractéristiques du nectar (concentration de sucre et volume de nectar) sous différents traitements ont été comparées en utilisant la somme de rang de Wilcoxon. Pour tester l'effet de l'état d'hydratation (jours depuis l'arrosage), du nombre de fleurs dans le groupe et de l'heure de la journée sur nos résultats, nous avons utilisé le modèle d'analyse de variance

(ANOVA). Nous avons utilisé le log (concentration de sucre) comme variable dépendante, et l'état d'hydratation (ou le nombre de fleurs dans le groupe ou à l'heure de la journée), le groupe de traitement et leur interaction comme prédicteurs. Les valeurs p post-hoc ont été calculées à l'aide d'un test HSD de Tukey. L'hypothèse de variance constante a été corroborée à l'aide du test de Levene. Tous les niveaux de vibration des pétales ont été comparés à l'aide du test de Wilcoxon apparié (comparaison des niveaux de vibration de la même fleur sous différents traitements ou enlèvement de pétales). La distribution des pollinisateurs sur le terrain a également été comparée à l'aide du test de Wilcoxon apparié.

## Résultats

Nous avons constaté que les fleurs d'*Oenothera drummondii* produisaient du nectar avec une concentration de sucre significativement augmentée (Wilcoxon  $p < 0,01$ , Fig. 1A ; et voir méthodes) après exposition à la lecture du son naturel des battements d'ailes des abeilles, ainsi qu'en réponse à des sons artificiels contenant des fréquences similaires (les traitements « Abeille » et « Bas », Fig. 1B milieu et droite), par rapport aux fleurs exposées à des sons de haute fréquence (le traitement « High », Fig. 1B à gauche) ou aucun son (le traitement « Silence »). La concentration moyenne de sucre était 20% plus élevée dans les fleurs exposées à des fréquences de pollinisateur (signaux sonores « Abeille » et « Faible »), par rapport aux fleurs exposées au « silence » ou « High », alors qu'aucune différence n'a été observée entre les fleurs exposées à des fréquences « élevées » et les fleurs exposées au traitement « Silence ». Aucune différence de concentration en sucre n'a été observée entre les groupes expérimentaux avant le traitement, et le volume de nectar produit par les fleurs n'a pas changé de manière significative dans les traitements « Abeille » et « Faible » (Fig. S4), montrant que l'augmentation de la concentration en sucre dans ces groupes ne pouvait pas être attribuée à une diminution du volume d'eau. L'analyse des données à l'aide du test t de Student des données transformées en logarithme a donné des résultats significatifs similaires ( $P < 0,001$  pour chacune des comparaisons entre le traitement (« Faible » et « Abeille ») et le contrôle (« Élevé » et « Silence »).



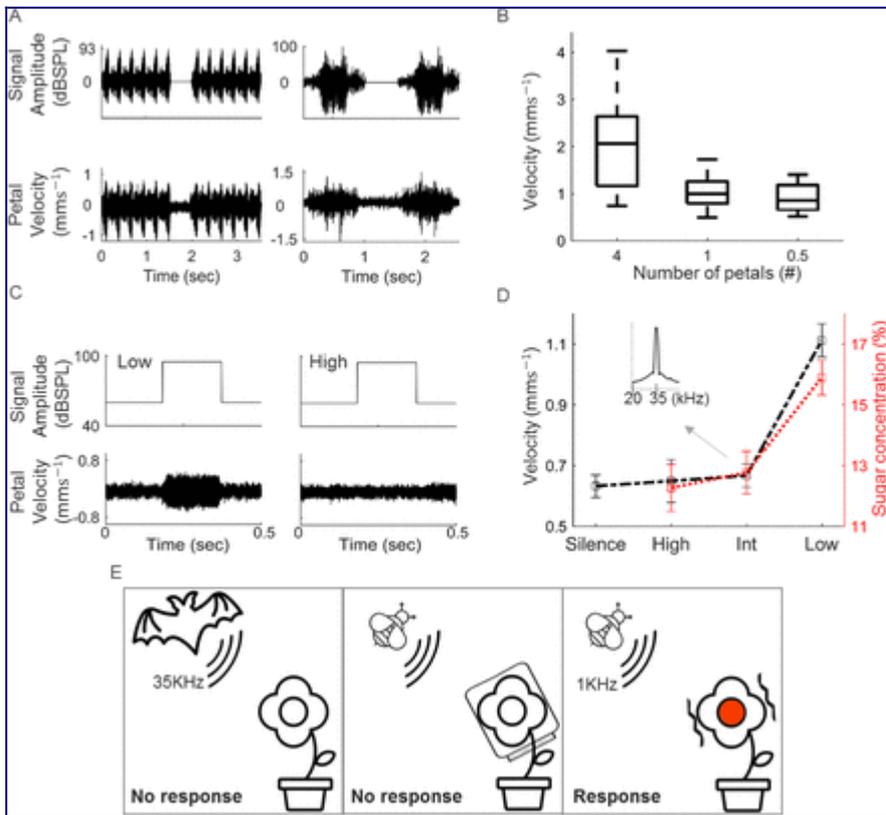
- [Télécharger la figure](#)
- [Ouvrir dans un nouvel onglet](#)

Fig. 1. Les fleurs réagissent rapidement aux sons des pollinisateurs en produisant un nectar plus sucré

A. Concentration moyenne de sucre sous les différents traitements dans les expériences extérieures (noir pointillé) et intérieure (pointillé rouge). La concentration moyenne de sucre entre les groupes intérieurs et extérieurs différait significativement ( $P < 0,01$ ) entre les fleurs exposées à des fréquences inférieures à 1 kHz (concentration de sucre de  $19,8 \% \pm 0,6$ ,  $n = 72$  et  $19,1 \% \pm 0,7$ ,  $n = 42$  pour « faible » et « abeille » après 3 minutes, respectivement), comparativement aux fleurs exposées au son de fréquence « Silence » ou « Haute » ( $16,3 \% \pm 0,5$ ,  $n = 71$  et  $16,0 \% \pm 0,4$ ,  $n = 72$ , respectivement). L'encart montre une fleur d'*Oenothera drummondii*. B. Spectres (contenu en fréquence) des signaux de lecture utilisés dans l'expérience. Les signaux « Bee » et « Low » contiennent la plupart des énergies inférieures à 1000 Hz, tandis que le contrôle « High » a culminé à environ 159 000 Hz.

Pour vérifier l'avantage potentiel d'augmenter la concentration de sucre quelques minutes après le son d'un pollinisateur, nous avons surveillé par vidéo la distribution des pollinisateurs près des fleurs d'*Oenothera drummondii* dans le champ pendant deux nuits. Nous avons constaté qu'un pollinisateur volant à proximité de la plante – et produisant du son dans le processus – est une forte indication qu'un autre ou le même individu peut se trouver à proximité de la plante en quelques minutes. Plus précisément, un pollinisateur était >9 fois plus fréquent près de la plante si un pollinisateur était près de la plante au cours des 6 minutes précédentes, que s'il n'y avait pas de pollinisateur au cours des 6 minutes précédentes (voir Fig. S5 et méthodes de surveillance des visites des pollinisateurs). Une réponse de la plante en quelques minutes au son d'un pollinisateur volant à proximité pourrait ainsi servir à mieux récompenser un autre pollinisateur à proximité (ou peut-être le même individu). Nous avons en outre quantifié le temps pendant lequel les pollinisateurs ont tendance à rester à proximité des fleurs d'*Oenothera drummondii* dans le champ (Méthodes). Deux espèces d'abeilles ont été observées autour des fleurs, et les « bourdonnements » observés (près de la fleur) étaient de  $27,8 \pm 7,7$  pour les abeilles mellifères ( $n = 44$ ) et de  $38,9 \pm 11,8$  pour les abeilles charpentières ( $n = 23$ ), voir Fig. S6. En réalité, les plantes peuvent bien sûr être exposées à des stimuli sonores plus longs en raison de multiples passages d'abeilles les uns après les autres. Notamment, comme notre lecture durait 3 minutes et que nous avions 6 plantes à chaque session, chaque plante était exposée à 30 secondes de lecture directe, en moyenne.

Pour déterminer si les ondes sonores émises par un pollinisateur entraînent des vibrations physiques de la fleur, nous avons utilisé la vibrométrie laser (voir méthodes). Les fleurs d'*Oenothera drummondii* vibraient mécaniquement en réponse aux sons aériens d'une abeille ou d'un enregistrement de papillon de nuit (Fig. 2A et S7 pour les spectres sonores des papillons de nuit), oscillant à des vitesses qui ont déjà été montrées pour provoquer une réponse de défense dans une plante qui a été déplacée mécaniquement à de telles vitesses (Appel & Cocroft 2014). L'amplitude des vibrations mécaniques (qui atteignait 0,1 mm) dépendait de la présence de pétales intacts et diminuait considérablement lors de l'enlèvement des pétales (Fig. 2B,  $P < 0,0005$ , voir Fig S2 pour plus de détails), suggérant que les pétales reçoivent directement ou servent à améliorer le signal reçu.



- [Télécharger la figure](#)
- [Ouvrir dans un nouvel onglet](#)

Fig. 2.R. Les fleurs vibrent mécaniquement en réponse au bruit aérien d'un pollinisateur.

En haut : Gauche - signal horaire d'un signal sonore d'abeille mellifère (signal aéroporté enregistré à l'aide d'un microphone). Signal de temps droit d'un papillon mâle volant de *Plodia interpunctella* (le spectre du signal culmine à ~100Hz, voir Fig. S7). En bas : Vibration mécanique enregistrée dans une fleur d'*Oenothera drummondii* en réponse à la lecture des signaux sonores de l'abeille (à gauche) et de la mite (à droite). B. L'amplitude des vibrations en réponse au signal de l'abeille dépendait de la présence de pétales : une vibration significativement plus forte a été enregistrée lorsque les 4 pétales étaient intacts par rapport à lorsque les fleurs étaient taillées et n'avaient que 1 ou 0,5 pétale (Wilcoxon apparié,  $P < 0,0005$  pour la comparaison entre 4 et 1 pétale et  $P < 0,005$  pour la comparaison entre 4 et 0,5 pétales). C. Les fleurs ont vibré en réponse à la lecture de basses fréquences autour de 1 kHz (à gauche) alors qu'elles ne vibraient pas au-dessus du bruit de fond pour les lectures à des fréquences plus élevées de ~35 kHz (à droite). En haut : l'heure à laquelle la lecture était « activée ». En bas: Signaux de temps de vibration des fleurs. D. Spécificité de fréquence dans la réponse aux vibrations et à la concentration de sucre. Les fleurs vibraient (pointillés noir) significativement plus que le bruit de fond en réponse à des signaux sonores dans les basses fréquences autour de 1kHz (apparié Wilcoxon  $p < 0,0001$ ,  $n = 21$ ) mais pas en réponse à des fréquences élevées autour de 160kHz ( $p > 0,6$ ,  $n = 23$ ) ou à des fréquences intermédiaires autour de 35kHz ( $p > 0,9$ ,  $n = 21$ ); Les fleurs ont également augmenté la concentration en sucre (ligne rouge pointillée) en réponse aux signaux « Faible » beaucoup plus qu'en réponse au signal « Intermédiaire » présenté dans l'encart ( $p < 0,002$ ) ou au signal « Élevé » servant de contrôle ( $p < 0,0001$ ). (Concentration de sucre de  $15,9\% \pm 0,57$ ,  $n = 81$ ,  $12,8\% \pm 0,7$ ,  $n = 49$  et  $12,3\% \pm 0,77$ ,  $n = 51$ , pour faible, élevée et intermédiaire, respectivement). L'encart montre le spectre du signal de lecture « intermédiaire » utilisé dans l'expérience de nectar. E. Résumé des résultats expérimentaux. Les fleurs vibrent en réponse aux sons aériens dans la gamme de fréquences du pollinisateur et augmentent la concentration de sucre nectar (panneau de droite). Les fleurs couvertes de verre ne répondent pas (au milieu), ce qui suggère que la fleur sert d'oreille à la plante. La réponse des fleurs est spécifique à la fréquence, et elles ne vibrent pas ou ne répondent pas à des fréquences autour de 35 kHz (à gauche).

Pour tester la spécificité de fréquence de la réponse, nous avons effectué une autre expérience intérieure (expérience 2, à l'automne) dans laquelle nous avons répété l'utilisation des stimuli sonores précédents (Low et High) et introduit un autre signal sonore « intermédiaire » avec une fréquence de crête de 35kHz (240 nouvelles fleurs ont été utilisées dans cette expérience, à l'automne, voir tableau S1). Les fleurs présentaient une spécificité de fréquence, à la fois fonctionnelle et mécanique: elles vibraient significativement (apparié Wilcoxon  $p < 0,0001$ ,  $n = 21$ ) en réponse aux signaux sonores du signal « Low », 1kHz, mais pas en réponse à la fréquence de crête d'un signal « intermédiaire », 35kHz ( $p > 0,9$ ,  $n = 23$ ), ou du signal « High », 160kHz ( $p > 0,9$ ,  $n = 21$ , voir [Fig. 2C](#) et ligne noire 2D). De même, les fleurs ont augmenté la concentration en sucre en réponse aux signaux sonores « faibles » de manière significative ( $p < 0,002$ , ligne pointillée rouge 2D) par rapport aux fleurs traitées « intermédiaires » ou « élevées ». Les sons « faibles » ont entraîné une concentration de sucre significativement plus élevée que tous les autres traitements (élevé, intermédiaire, élevé en pot, faible en pot), également en tenant compte de l'état d'hydratation, du nombre de fleurs dans le groupe ou de l'heure de la journée ( $p < 0,03$ ). Les différences entre les quatre autres groupes de traitement n'étaient pas significatives. Les rapports entre la concentration et les vibrations post-traitement par installation ont révélé un schéma identique: les rapports étaient significativement plus élevés ( $p < 0,002$  pour le rapport de concentration, voir [Fig. S8](#),  $p < e-07$  pour le rapport de vibration) dans les plantes exposées à des sons « faibles » par rapport aux plantes exposées à des sons « élevés » ou « intermédiaires » (tableau S2). Dans une autre expérience (expérience 3,  $n = 112$  fleurs, au printemps) où seuls les stimuli « Faible » et « Élevé » ont été testés, il y a eu à nouveau une augmentation significative de la concentration de sucre en réponse aux stimuli « Bas » (voir tableau S3). Les plantes présentaient un phénotype de floraison différent selon les saisons, reflétant probablement la saison vécue avant d'entrer dans la salle de croissance: les plantes d'été (expérience 1) avaient des fleurs plus grandes avec une concentration de sucre plus élevée avant le traitement par rapport aux plantes d'automne (expérience 2) ou de printemps (voir tableau S4). Quoi qu'il en soit, la tendance principale – une augmentation de la concentration de sucre nectar en réponse à la lecture du son des pollinisateurs – était très significative en toutes saisons ([Fig. 2D](#), 1A, Tableau S3).

Enfin, pour valider l'importance de la fleur elle-même en tant qu'organe responsable de la réception du son, nous avons mené une autre expérience. Lorsque les fleurs (mais pas la tige ou les feuilles) étaient recouvertes de bocaux en verre qui bloquaient le son (voir [Fig. S2](#)), puis la lecture « faible » n'a eu aucun effet sur la concentration en sucre : Pour les fleurs enfermées dans des bocaux, il n'y avait pas de différence significative entre l'exposition au traitement « faible » et l'exposition à « élevée » ( $p > 0,64$ , pour  $n = 58$  et  $59$  fleurs, respectivement), et aucun de ces groupes ne différait significativement du traitement « élevé » sans pot, qui servait de témoin ( $p > 0,49$ ,  $n = 49$  fleurs, voir tableau S2).

## Discussion

Nous avons constaté que les plantes réagissent rapidement à des fréquences sonores aéroportées spécifiques ([Fig. 1](#), [2D](#)) d'une manière qui pourrait potentiellement augmenter leurs chances de pollinisation, et que les fleurs peuvent servir d'organes de détection du son ([Fig. 2](#)). Des résultats cohérents ont été obtenus dans quatre expériences indépendantes (tableau S1) avec plus de 650 fleurs au total. Les fleurs ont réagi de la même manière aux battements d'ailes des abeilles et aux ondes sonores artificielles qui étaient similaires dans leur spectre de fréquences, mais différaient grandement dans leur modèle temporel, suggérant que la fréquence du son est suffisante pour provoquer une réponse. Les fleurs ont réagi rapidement, en 3 minutes. La concentration de sucre dans le nectar produit suite à l'exposition au son a augmenté de  $\sim 20\%$  en moyenne.

Il a été démontré que les abeilles sont capables de percevoir des différences dans la concentration en sucre, aussi petites que 1 à 3 % ([Afik et al. 2006](#); [Whitney et coll., 2008](#)). Ainsi, même si le nouveau nectar riche en sucre est dilué par un nectar de concentration plus faible déjà présent dans la fleur, les abeilles seraient en mesure de détecter la différence dans de nombreux cas. C'est déjà vrai 3 minutes après la première émission sonore, et la concentration absolue de sucre pourrait encore augmenter si la réponse de la plante se poursuit. L'augmentation de la concentration en sucre peut améliorer le processus d'apprentissage des pollinisateurs et

faciliter la constance des pollinisateurs – la tendance à visiter les fleurs de la même espèce ([Cnaani et al. 2006](#)) – augmentant ainsi l'efficacité de la pollinisation. Une récompense accrue peut également augmenter la durée des visites, améliorant ainsi l'efficacité de la pollinisation ([Manetas & Petropoulou, 2000](#); [Brandenburg et coll., 2012](#)). Cela n'est pas sans mises en garde : une concentration trop élevée de sucre pourrait entraîner un nectar trop visqueux pour certains pollinisateurs, mais les valeurs mesurées ici sont inférieures à l'optimum pour les abeilles et les papillons de nuit ([Josens & Farina 2001](#); [Krenn, 2010](#); [Kim et coll., 2011](#)), ce qui suggère que les pollinateurs peuvent bénéficier de l'augmentation de la concentration. Il peut également en résulter un plus grand nombre de fleurs visitées par plante, ce qui peut conduire à une auto-énation géitonogare ([Klinkhamer et de Jong, 1993](#); [Hodges, 1995](#); [Dafni et coll., 2005](#)). Pourtant, si seulement une partie des fleurs de la plante comporte des récompenses accrues – p. ex. en raison de l'épuisement – la réponse pourrait entraîner une variation accrue de la culture sur pied de nectar au sein de la plante, encourageant les pollinisateurs à passer à la plante suivante et facilitant le croisement ([Ott et al., 1985](#); [Biernaskie et Cartar, 2004](#); [Pyke, 2016](#)).

Une réponse dans les 3 minutes est avantageuse lorsque les pollinisateurs se déplacent entre les fleurs voisines, ou lorsque la présence d'un pollinisateur est un bon prédicteur d'autres pollinisateurs voisins, comme chez les abeilles ([Goulson, 1999](#); [Slaa et coll., 2003](#)) et chez les papillons de nuit selon nos observations sur le terrain (Fig. S5). Une telle réponse permettrait à la plante de déterminer le début et l'intensité de l'activité des pollinisateurs qui peuvent varier d'un jour à l'autre en raison de divers facteurs tels que les conditions météorologiques ([Corbet et al., 1993](#)). L'usine pourrait alors passer à un mode de production de sucre accru, afin de récompenser les premiers visiteurs réels. Une augmentation rapide de la concentration de sucre nectar serait également avantageuse dans le cas d'un pollinisateur sporadique restant longtemps dans la zone de la plante. Il est à noter que chez une plante comme l'onagre, caractérisée par de multiples fleurs (des dizaines de fleurs dans un buisson mature), la réponse au son d'un pollinisateur voisin pourrait être bénéfique même si le pollinisateur évite de visiter les fleurs spécifiques qui ont été visitées récemment ([Giurfa & Núñez 1992](#); [Goulson et al., 1998](#)), puisqu'il peut encore visiter d'autres fleurs de la même plante. D'autres pollinisateurs préfèrent en fait les sources de nourriture occupées ou récemment occupées ([Schmidt et al., 2003](#); [Kawaguchi et coll., 2006](#); [Lihoreau et al., 2016](#)), et pourrait particulièrement bénéficier d'un remplissage amélioré.

Les plantes ont répondu à des fréquences sonores spécifiques caractéristiques du battement des ailes des pollinisateurs (Fig. 1, 2). Comment une telle spécificité pourrait-elle être atteinte? Nous avons estimé la fréquence de résonance du pétale d'onagre à quelques centaines de Hz sur la base de modèles de vibrations développés pour des objets de formes similaires ([Blevins & Plunkett 1980](#)). Ceci est proche des fréquences sonores généralement générées par le battement des ailes des abeilles et des mites. De plus, la fleur devrait vibrer principalement autour de la fréquence de résonance et vibrer moins en réponse à des fréquences plus élevées ou plus basses. Cela pourrait expliquer comment la fleur a augmenté la concentration de sucre dans son nectar uniquement en réponse à de basses fréquences. Cette spécificité de fréquence pourrait également expliquer comment la fleur filtre les vibrations induites par le vent, qui sont généralement à des fréquences plus basses ([Appel & Cocroft 2014](#)).

Le travail actuel est une première étape dans un nouveau domaine, et peut être étendu de plusieurs façons. Tout d'abord, la réponse au son peut être étudiée plus avant dans la nature, sur le fond d'autres sons naturels. Deuxièmement, toutes nos mesures de nectar ont été effectuées en vidant d'abord la fleur, puis en mesurant le nectar rempli. Il sera plus réaliste de tester la réponse au son sans manipulation préalable ([Corbet, 2003](#)), mais il faudrait des échantillons de grande taille en raison de la grande variation de la culture sur pied nectar présente chez les espèces modèles. Troisièmement, la fonctionnalité réelle de la réponse n'a pas encore été testée – c'est-à-dire que les pollinisateurs préfèrent effectivement les plantes exposées au son, et dans quelle mesure? Quatrièmement, nous avons testé la réponse au son chez une seule espèce végétale. D'autres espèces peuvent révéler des réactions différentes selon leurs écologies spécifiques (p. ex., les plantes pollinisées par les chauves-souris peuvent réagir à des fréquences différentes).

Les vibrations des pétales que nous mesurons pourraient être captées par les mécanorécepteurs, qui sont communs chez les plantes ([Monshausen & Gilroy 2009](#)), et il a été démontré qu'ils répondent aux vibrations avec des amplitudes similaires ([Appel & Cocroft 2014](#)). Nous émettons l'hypothèse que la fleur sert d'oreille externe à la plante en termes de réception de la pression acoustique. Nous postulons que les pétales d'autres espèces à fleurs auraient pu évoluer pour détecter le son, similaire à nos découvertes chez *Oenothera drummondii*. La fréquence de résonance d'une fleur sera dictée par ses paramètres mécaniques: taille, forme et densité, qui pourraient être sous sélection naturelle. Si les réponses des plantes aux signaux acoustiques aéroportés sont effectivement adaptatives dans le contexte de la pollinisation, nous nous attendons à ce que les plantes avec des pollinisateurs « bruyants » – tels que les abeilles, les mites et les oiseaux – aient développé de grandes fleurs en forme d'oreilles avec des paramètres mécaniques appropriés les rendant sensibles aux sons de leurs pollinisateurs.

On en sait beaucoup sur la réaction des pollinisateurs à la signalisation des plantes à distance ([Patini, 2011](#); [Schaefer et Ruxton, 2011](#)). En revanche, la réponse des plantes aux pollinisateurs à distance n'a jamais été démontrée. Les implications d'une telle réponse au système écologique pourraient être considérables, puisque la pollinisation est essentielle à la survie de nombreuses espèces végétales, y compris de nombreuses cultures importantes pour l'agriculture ([Kremen et al. 2002](#); [Faegri & Van der Pijl 2013](#)). La réponse des plantes au son pourrait permettre une rétroaction bidirectionnelle entre les pollinisateurs et les plantes, ce qui peut améliorer la synchronisation entre eux, réduire les déchets de nectar et potentiellement améliorer l'efficacité de la pollinisation dans des environnements changeants. Ces avantages peuvent être diminués dans des environnements très bruyants, suggérant une sensibilité possible de la pollinisation aux bruits extérieurs, y compris les bruits anthropogènes. Enfin, la capacité des plantes à entendre a des implications bien au-delà de la pollinisation : les plantes pourraient potentiellement entendre et réagir aux herbivores, à d'autres animaux, aux éléments et peut-être à d'autres plantes.