



HAL
open science

Altérations du grain de pollen par la pollution atmosphérique

M. Choël, N. Visez

► **To cite this version:**

M. Choël, N. Visez. Altérations du grain de pollen par la pollution atmosphérique. Revue française d'allergologie, 2019, 10.1016/j.reval.2019.10.003 . hal-02360383

HAL Id: hal-02360383

<https://hal.science/hal-02360383v1>

Submitted on 21 Jul 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

Altérations du grain de pollen par la pollution atmosphérique

Alterations of pollen grains due to air pollution

Marie Choël^{1*} et Nicolas Visez^{2,3}

¹Univ. Lille, CNRS, UMR 8516 - LASIR - Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman, F-59000 Lille, France

²Univ. Lille, CNRS, UMR 8522 - PC2A - Physicochimie des Processus de Combustion et de l'Atmosphère, F-59000 Lille, France

³Association pour la Prévention de la Pollution Atmosphérique, Parc Eurasanté, 235 avenue de la Recherche, F-59120 Loos, France

*Corresponding author : Marie Choël (marie.choel@univ-lille.fr)

Résumé

La pollution atmosphérique intervient sur l'allergie aux pollens par au moins trois voies : par ses effets directs sur la santé humaine, par la modification de la santé des végétaux, par l'altération directe du grain de pollen allergisant. Cette revue de la littérature traite de ce dernier point : les effets chimiques ou biologiques de la pollution atmosphérique sur le grain de pollen (GP). Les effets sur la santé de ces modifications du GP ne sont pas détaillés dans cette revue de la littérature qui s'intéresse spécifiquement aux modifications biologiques, chimiques ou structurales du GP par la pollution atmosphérique. Les effets du CO₂ sur les plantes et leur reproduction sont abordés dans l'article de J.-P. Besancenot sur le changement climatique.

Abstract

Air pollution affects pollen allergy in at least three ways: through its direct effects on human health, through changes in plant health, and through the direct alteration of the allergenic pollen grain. This literature review addresses the latter point: the chemical or biological effects of air pollution on pollen grain (GP). The health effects of these alterations to the PG are not detailed in this literature review, which focuses specifically on biological, chemical or structural changes in PG due to air pollution. The effects of CO₂ on plants and their reproduction are discussed in the article on climate change by J.-P. Besancenot.

Mots clés

Pollen ; Pollution atmosphérique ; Allergie

Keywords

Pollen; Air pollution; Allergy

1. Introduction

Les effets de la pollution atmosphérique sur le pollen sont étudiés depuis une cinquantaine d'années. Les *effets sur la fonction reproductrice des végétaux* (germination et viabilité) ont été abondamment décrits et sont les marqueurs de l'altération du pollen par la pollution les plus utilisés. Des *dégradations physiques du grain de pollen* (GP) ainsi que des *changements dans la composition chimique du GP* ont également été largement décrits dans la littérature. Afin de gagner une meilleure connaissance des processus (bio)chimiques en jeu entre le pollen et la pollution atmosphérique, de nombreux groupes de recherche ont examiné la *modification de la fraction lipidique pollinique* ainsi que la *modification des protéines*. La fragilisation du GP par la pollution atmosphérique a été étudiée pour son implication dans *la rupture du GP* ayant pour conséquence la dispersion des allergènes dans la fraction respirable de l'aérosol atmosphérique. *L'adhésion de particules atmosphériques en surface du GP* ainsi que *d'autres pollutions du GP* (pesticides, HAP, nanoparticules...) ont également fait l'objet de publications récentes. Cette revue de la littérature a volontairement été orientée pour inclure préférentiellement les travaux publiés pendant la

décennie écoulée. Nous invitons le lecteur à la recherche d'informations complémentaires à se procurer les articles de synthèse récents [1–10]. Les effets du changement climatique sur les plantes et leur reproduction ne sont pas abordés dans cette revue de la littérature (voir Choël et Visez (2019) [11]).

2. Effets sur la fonction reproductrice des végétaux

La modification de la capacité germinative des GP a été associée dès les années 70 à une exposition à la pollution atmosphérique et elle est depuis lors souvent utilisée comme un marqueur de l'état de pollution des GP. Le plus souvent, l'exposition de GP à la pollution atmosphérique, simulée en laboratoire ou réelle, conduit à une diminution des fonctions de reproduction des végétaux (voir par exemple [12–17] et pour une revue de la littérature sur ce sujet [18]). Toutefois, certains traitements à base de fumées issues de la combustion de végétaux ont par exemple la propriété d'améliorer la germination et l'élongation du tube pollinique [19].

Des études récentes s'intéressent également à la quantité de GP et/ou de graines produites par la plante selon différentes conditions de pollution chimique (métaux, NO₂, O₃ ou CO₂). Par exemple, NO₂ induit sur les plants d'*Ambrosia Artemisiifolia* L. une augmentation du nombre de GP et une diminution de la production de graines [20] alors que des plants de *Chenopodium botrys* situés à proximité de mines de cuivre et de fer produisent moins de GP que leurs homologues provenant de zones moins polluées [21]. Les travaux récents sur le CO₂ ont permis de documenter les effets sur les fonctions de reproduction de la plante et sur le GP avec notamment pour objectif l'estimation des concentrations atmosphériques futures de GP (voir l'article de J.-P. Besancenot dans ce même numéro).

3. Dégradations physiques du grain de pollen

La surface extérieure de GP collectés dans des zones polluées (urbaines ou industrielles) a été décrite comme présentant plus fréquemment des altérations physiques, telles des fissures ou des déformations [22–25], ou étant recouverte plus abondamment de matériaux extra-polliniques par comparaison à des GP collectés dans des zones potentiellement moins polluées (rurales ou forestières) [26].

Ces modifications physiques ont été parfois associées à une plus petite taille des GP et à une plus grande fragilité de l'exine et, de ce fait, à une capacité de libération des allergènes accrue [22,23,25,27–31]. L'oxydation par l'ozone de monomères de l'acide coumarique constitutifs de la sporopollénine a d'ailleurs été observée en laboratoire sur le pollen de *Pinus Halepensis* [32]. Ce type de dégradation de l'exine pourrait être une explication à une modification des propriétés mécaniques de l'exine (voir section 7. Rupture du grain de pollen et libération des allergènes).

Plusieurs études ne mettent toutefois pas en évidence de modifications physiques des GP suite à une exposition à des polluants gazeux [33–35]. On peut par ailleurs regretter que la mise en évidence de dégradations physiques sur les GP ne s'accompagne que très rarement d'une analyse quantitative complète, présentant notamment le nombre de grains observés et le nombre de grains affectés. Cela rend par conséquent difficile l'appréciation de l'ampleur des phénomènes de dégradations physiques des GP consécutives à une exposition à la pollution atmosphérique.

4. Changements dans la composition chimique élémentaire du grain de pollen

Outre le carbone et l'oxygène, le phosphore et le potassium sont les éléments chimiques dominants détectés dans des GP témoins (non pollués) de Poaceae et d'*Alnus* spp par spectrométrie à dispersion d'énergie (EDS) couplée à la microscopie électronique à balayage (MEB) [36–38]. Bien qu'il n'existe pas une composition chimique élémentaire 'type' du pollen pollué, un caractère commun pouvant être considéré comme un marqueur de la pollution est la présence de métaux : zinc, plomb, cuivre, aluminium, manganèse, nickel... [9]. Par exemple, du pollen d'*Ailanthus altissima* collecté sur deux saisons consécutives a présenté d'importantes variations dans certains éléments caractéristiques d'un milieu pollué : nickel, soufre, aluminium, plomb et cuivre [39]. Ces éléments peuvent avoir pour origine une translocation de la pollution des sols, une déposition par la pluie ou encore être issus de particules atmosphériques déposées en surface des GP. La présence de ces éléments a par ailleurs été corrélée avec une baisse des capacités germinatives du GP [17,40,41].

Les polluants gazeux peuvent directement s'adsorber en surface des GP. Les capacités d'adsorption de polluants tels que NO₂ et O₃ ont par exemple été mesurées sur des pollens de *Betula pendula* et de *Phleum pratense* [33,35]. Les GP de *Cryptomeria japonica* prélevés en zone urbaine présentent des concentrations en composés ioniques (NO₃⁻, SO₄²⁻ et NH₄⁺) ainsi qu'en polluants adsorbés (NO₂, SO₂ et NH₃) supérieures à celles des GP prélevés en zone montagnarde [42].

Les effets de la pollution atmosphérique sur la composition chimique élémentaire du GP sont finalement relativement peu étudiés ; les travaux de recherche sont essentiellement axés sur la compréhension des mécanismes chimiques de modification des lipides et des protéines.

5. Modification de la fraction lipidique pollinique

Les GP possèdent une fraction lipidique distribuée entre la surface du pollen (revêtement lipidique ou "*pollen coat*") et le cytoplasme. Les lipides polliniques peuvent jouer un rôle dans l'inflammation des voies aériennes et ces composés peuvent également agir comme ligands avec les protéines allergisantes [43,44]. La fraction lipidique pollinique a fait l'objet d'études récentes pour mieux caractériser sa composition chimique [32,35,45,46].

La pollution atmosphérique peut modifier cette fraction lipidique comme l'attestent plusieurs études récentes. La concentration en prostaglandine PGE₂ (composé de la famille des PALMs : Pollen Associated Lipid Mediators) a été en effet négativement corrélée avec une exposition à l'ozone pour le pollen de *Betula* [47]. Des GP de *Thuja orientalis* L. collectés en zone polluée par le trafic routier ont présenté un taux de flavonoïdes supérieur aux GP issus d'une zone peu polluée [31,48]. De même, un stress environnemental (NO₂) lors de la culture en conditions de laboratoire d'*Ambrosia Artemisiifolia* L. peut engendrer une modification de la composition en flavonoïdes du GP [20]. Une augmentation de la teneur en composés phénoliques pour les GP de *Phleum pratense* collectés en zone polluée a également été observée [49]. Toutefois, bien que Depciuch et al. (2016) ont observé des différences significatives dans les lipides de GP de *Corylus avellana* collectés dans des zones avec des degrés divers de pollution, les GP collectés en zone à forte densité automobile contenaient quant à eux une plus faible fraction lipidique [50].

Certains lipides externes des GP sont également susceptibles d'être éliminés par l'ozone. C'est le cas des alcènes présents dans la couche lipidique externe des GP de *Betula pendula* et qui sont oxydés en aldéhydes et en acides gras sous l'effet d'une exposition à 100 ppb d'ozone en laboratoire [35]. Similairement, les GP de *Pinus halepensis* possèdent dans leur couche lipidique externe des acides gras insaturés oxydables en laboratoire sous l'effet de l'ozone [32].

Les effets potentiels des lipides sur l'inflammation des voies respiratoires et la modulation des réactions allergiques a fait l'objet d'une littérature abondante [43,44,51,52]. La fraction lipidique des pollens allergisants est toutefois encore largement inconnue, de même que les effets de la pollution sur celle-ci. Une approche plus systématique est nécessaire pour obtenir des informations quantitatives sur la composition chimique lipidique, sur sa biodisponibilité et ses effets, tant sur l'allergie que sur la capacité germinative des GP [6,44].

6. Modification de la fraction protéique

Des modifications induites par la pollution atmosphérique ont été mises en évidence au niveau des profils protéiques, de la quantité de protéines et d'allergènes et au niveau de la structure des protéines [2,28,53].

Des changements dans les profils protéiques n'ont pas été systématiquement observés suite à une exposition de la plante ou du pollen à la pollution atmosphérique [2,9]. Par exemple, une analyse des protéines de pollen de *Betula* par électrophorèse différentielle (Differential In-Gel Electrophoresis DIGE) a révélé des différences d'intensité sur 26 spots par comparaison entre du pollen récolté en milieu urbain et du pollen collecté en milieu rural [54]. Des différences qualitatives et quantitatives ont également été détectées dans les profils d'allergènes de GP d'*Ambrosia artemisiifolia* L. collectés à proximité de routes ou dans des milieux naturels [55]. Au contraire, les analyses en western blot de protéines issues de GP de *Pinus radiata* n'ont pas permis d'observer de différences selon le degré de pollution de la zone de récolte du pollen [56].

Concernant les quantités de protéines et d'allergènes, les modifications causées par la pollution atmosphérique ne sont pas complètement élucidées. La littérature comprend des exemples d'études montrant une absence d'effets [31,34,57], une diminution [13–15,49,58–60] ou encore

une augmentation [61,62] des protéines et/ou des allergènes sous l'effet des polluants. Une augmentation de la quantité d'enzymes impliquées dans les capacités antioxydantes a également été montrée pour les GP de *Phleum pratense* récoltés en milieux pollués [49] ainsi qu'une expression des gènes codant les allergènes Pla 1 et 3 (mais pas pour Pla 2) significativement augmentée pour les GP de *Platanus orientalis* collectés en zone polluée [63]. Il est probable que ces différences d'effets observés sur les profils ou les quantités de protéines et d'allergènes soient le reflet d'une résistance plus ou moins prononcée des GP selon l'espèce végétale et la pollution subie [2].

Des modifications chimiques des protéines ont été mises en évidence dans des conditions de laboratoire où un allergène ou une protéine modèle (Bovine serum albumin (BSA) et ovalbumin (OVA)) sont exposés directement aux polluants sans la protection offerte par la structure du GP. Hong et al. (2018) ont ainsi montré la formation d'un pont disulfure entre deux molécules voisines de cystéine dans un allergène recombinant du pollen d'*Humulus japonicus* (rHum j1) après une exposition directe et simultanée de l'allergène à l'ozone et au dioxyde d'azote [64]. Ces deux polluants, avec des effets différents selon qu'ils sont utilisés séparément ou en mélange, provoquent également lors d'exposition en laboratoire d'une protéine modèle des réactions de nitration et de dimérisation [65–71]. L'ozone provoque également l'oligomérisation d'une protéine modèle (BSA) dans des conditions d'exposition en laboratoire [72]. Des plants d'*Ambrosia* exposés au NO₂ pendant leur croissance produisent un pollen avec des quantités accrues de plusieurs isoformes de l'allergène Amb a 1 et l'exposition au NO₂ engendre également la nitrosylation de protéines, y compris de l'allergène Amb a 1 [73].

Ce type d'exposition directe des protéines aux polluants, bien que précieux pour la connaissance des mécanismes chimiques [74], ne prend pas en compte les couches de protection offertes par la structure du GP, dont l'un des rôles est justement de prévenir tout dommage au matériel interne lors du transport atmosphérique. L'exposition directe en laboratoire des protéines aux polluants ou aux rayonnements ultraviolets [68] pose donc la question du réalisme de ce type d'études de laboratoire par rapport aux conditions d'exposition atmosphérique et interpelle par ailleurs sur l'importance de bien connaître, d'une part, les mécanismes de rupture du GP et, d'autre part, les processus de libération de son contenu

dans l'atmosphère. Une fois libérées du GP, les protéines sont en effet plus à même d'être chimiquement modifiées par les polluants atmosphériques et le rayonnement solaire [71,75]. Il a d'ailleurs été mesuré une capture d'ozone plus importante par du pollen de *Betula pendula* ayant subi une rupture comparativement à du pollen intact [35].

7. Rupture du grain de pollen et libération des allergènes

Avec une taille moyenne de 35 µm et de 21 µm respectivement pour le GP de *Phleum pratense* et celui de *Betula*, le GP entier ne peut pénétrer que dans les voies aériennes supérieures. Il a été montré que des allergènes responsables de l'asthme sont contenus dans des particules micrométriques subpolliniques capables d'atteindre les poumons [76,77].

Les allergènes intrapolliniques sont libérés suite à une altération de l'intégrité de la structure du GP telle que la membrane pollinique finisse par se rompre. L'ultrastructure de la paroi pollinique d'une soixantaine de taxons allergisants a été observée en microscopie en transmission (MET) à partir de coupes de GP [78]. Alors que les GP de plantes à faible potentiel allergisant telles que les espèces de la famille des Salicacées, Fagaceae ou Ulmaceae présentent une paroi pollinique constituée de trois couches (l'intine, l'endexine et l'ectexine, ces deux dernières constituant l'exine), les GP de plantes à fort potentiel allergisant telles que les espèces de Betulaceae et Poaceae, ne présentent pas d'endexine détectable ou bien une endexine ultramince dans le cas d'*Ambrosia artemisiifolia*. De plus, les GP de ces plantes à fort potentiel allergisant renferment des grains d'amidon (amyloplast) ou granules cytoplasmiques de pollen (GCP) stockés en proportion élevée et pouvant contenir des allergènes majeurs du pollen [79]. Par observation au microscope de GP de *Lolium perenne* en immersion dans l'eau de pluie, on estime qu'environ 700 GCP de tailles comprises en 0,5 et 2,5 µm sont expulsées par GP [80]. La taille des GCP libérées lors de la rupture du GP leur confère la capacité de pénétrer profondément dans le système pulmonaire et donc d'être des déclencheurs potentiels de l'asthme allergique [81]. La question se pose donc de savoir si la morphologie, l'ultrastructure et la quantité de GCP pourraient contribuer à l'accessibilité des protéines allergisantes et donc renforcer leur allergénicité.

Outre la structure du GP, les conditions atmosphériques (pluie, vent, orage) peuvent faciliter la production de particules subpolliniques par rupture du GP. Les études de laboratoire ont principalement portées sur la rupture et la libération des allergènes en voie humide [79,82]. Au contact de l'eau de pluie, l'enveloppe protectrice du GP, ou sporoderme, peut se déchirer par choc osmotique ou par germination abortive (élongation puis rupture du tube pollinique), libérant les GCP. Par ailleurs, la rupture du pollen par choc mécanique lors de son transport par le vent a également été observée en laboratoire [83]. La figure 1 illustre la formation de particules subpolliniques suite à une altération mécanique en voie sèche par broyage en laboratoire.

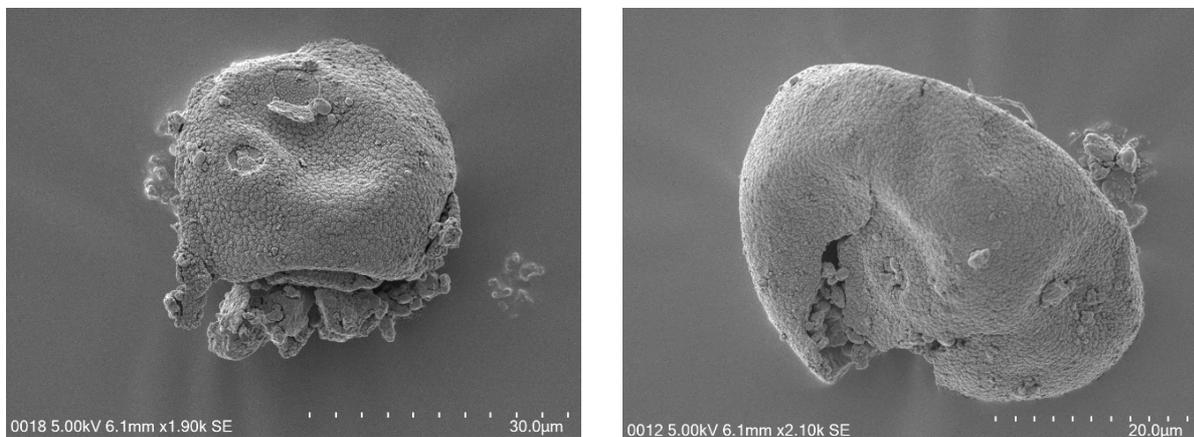


Figure 1. Grains de pollen de *Phleum pratense* broyés en laboratoire pour étudier la libération des GCP par altération mécanique.

Des études de terrain ont montré que la pollution atmosphérique peut induire une fragilisation de la membrane pollinique allant de l'érosion de l'exine jusqu'à une dégradation physique plus marquée avec des craquelures dans les couches superficielles, voire des fissurations de la paroi pollinique conduisant à la rupture du GP et à la libération des allergènes dans la fraction respirable de l'aérosol atmosphérique (PM_{2.5}) [22,23,25,27–31]. Des dommages significatifs sont par exemple observés sur les GP exposés à de fortes concentrations en NO₂ et SO₂, entraînant une libération accrue de GCP [24]. La rupture de l'exine est également observée plus rapidement et sur un plus grand nombre de GP lorsque ceux-ci proviennent de zones polluées [31]. A l'inverse, aucune différence

n'est observée dans la libération des GCP entre des GP d'*Ambrosia* collectés à proximité du trafic routier ou dans des zones naturelles [55].

8. Adhésion de particules atmosphériques en surface des grains de pollen

Depuis les années 1980, une vingtaine d'études ont signalé la présence de particules à la surface de GP à partir d'observations faites directement à l'échelle du grain en microscopie optique et électronique [26]. Ces observations ont été rapportées pour divers taxons recueillis à travers le monde selon trois approches expérimentales. Dans la majorité des études, le pollen est recueilli directement dans les inflorescences de plantes poussant en milieu fortement anthropisé. D'autres études s'appuient sur l'exposition en milieux pollués de GP préalablement recueillis en milieu rural, le pollen rural servant de témoin. Plus rarement, le pollen est prélevé directement dans l'air ambiant. Généralement, les GP présentant une contamination particulaire ont été collectés sur la plante en zone polluée (urbaine, industrielle) alors que les GP collectés en milieu rural sont exempts de particules [9,26,84,85].

Plusieurs voies de contamination du pollen par les particules atmosphériques peuvent s'envisager. La contamination peut survenir avant que le pollen ne quitte la plante au moment de l'ouverture des anthères. Alternativement, le GP peut se polluer par coagulation avec d'autres particules en suspension au cours de son transport atmosphérique. Il est également envisageable que le pollen, après sédimentation, se contamine au contact de particules sur une surface polluée. Le GP ainsi pollué peut par la suite être remis en suspension par le vent. L'importance relative de ces différentes voies de pollution du GP par des particules atmosphériques est actuellement inconnue, la plupart des études étant purement qualitatives et relevant simplement la présence ou l'absence de particules, sans déterminer précisément la fraction de GP pollués. La première étude semi-quantitative a été faite par Behrendt et al. (1991). Dans ce travail, l'état de pollution de GP collectés en milieu urbain a été décrit semi-quantitativement en fonction du degré d'agglomération de particules collées sur la surface pollinique sur une échelle de 1 (non pollué) à 4 (recouvert de particules) : plus de 90% des GP examinés par microscopie présentaient une particule atmosphérique ou plus sur leur surface [86]. La seule étude proprement quantitative connue à ce jour est celle de Ribeiro et al. (2015) conduite

sur des pollens prélevés dans la ville de Porto. La contamination particulaire de trois différents types de pollen a été déterminée : en moyenne 16 ± 12 particules/GP pour *Acer*, 39 ± 32 particules/GP pour *Pinus* et 4 ± 4 particules/GP pour *Platanus* [87]. Cette étude conclut à un taux de pollution des GP par les particules élevé mais selon un protocole de collecte discutable. En effet, les GP examinés ont été prélevés en utilisant le capteur volumétrique de type Hirst, dont le diamètre de coupure ($3,7\ \mu\text{m}$) est largement inférieur à celui du pollen [88]. Dans ces conditions, il n'est pas exclu que la pollution particulaire survienne également au cours du prélèvement. Il conviendrait d'utiliser pour ce type d'études de pollution particulaire du pollen des systèmes assurant une parfaite séparation lors du prélèvement entre le pollen et les particules plus fines, tels que des impacteurs en cascade.

La nature des particules atmosphériques adhérentes en surface de GP a été élucidée au moyen de l'analyse élémentaire par microscopie électronique à balayage couplée à la spectrométrie d'émission de rayons X (MEB-EDX) ou par microscopie Raman [42,57,89–91]. La figure 2 présente deux GP de *Phleum pratense* recouverts de particules micrométriques ; dans un cas l'origine des particules est atmosphérique, dans l'autre cas les particules sont d'origine subpolliniques. Seule une analyse élémentaire à l'échelle de la particule par MEB-EDX peut permettre d'élucider la nature des particules. Bien que les particules atmosphériques soient considérées comme l'un des polluants parmi les plus préoccupants pour la santé humaine, notamment en Europe [92], les effets sur l'allergie de la pollution du pollen par des particules atmosphériques sont relativement peu connus. Cela peut s'expliquer par la difficulté d'obtenir un échantillon atmosphérique en quantité suffisante et également par les difficultés techniques pour obtenir un échantillon modèle de GP pollué en laboratoire par des particules. Certaines études récentes s'intéressent toutefois aux effets sanitaires d'une exposition simultanée au pollen et aux particules atmosphériques [93–96].

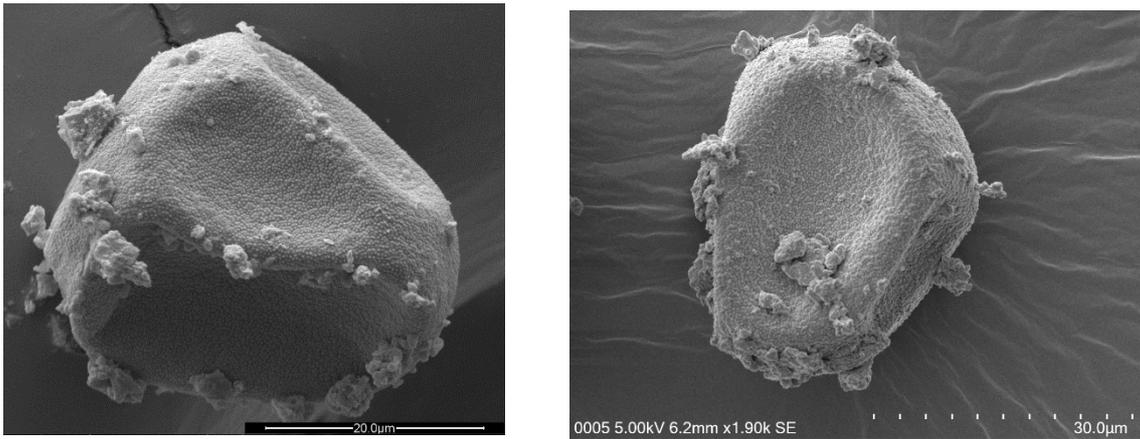


Figure 2. Grains de pollen de *Phleum pratense* recouverts de particules : (à gauche) adhésion de particules atmosphériques suite à un prélèvement en air ambiant réalisé au moyen d'un capteur de pollen de type Hirst ; (à droite) adhésion de particules subpolliniques (fragments de paroi pollinique et GCP) suite à une altération mécanique par broyage en laboratoire.

9. Autres pollutions du grain de pollen

Les travaux sur les effets de la pollution sur le pollen ont porté en grande partie sur quelques polluants emblématiques de la pollution urbaine ou industrielle (métaux, particules dont suies émises par les véhicules diesel, NO₂, SO₂ et O₃). D'autres travaux récents, bien que plus rares, portent sur d'autres polluants comme les polluants organiques persistants (POP : pesticides, bisphénol A, hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)), les nanoparticules, les effets de la radioactivité et enfin sur la présence d'espèces réactives de l'oxygène dans les GP.

Les effets des pesticides ont été recherchés en particulier sur les fonctions de reproduction du pollen [97–99] et sur sa morphologie [100]. Les études sur les HAP ont quant à elles portées sur les effets sur l'allergie [101] et sur les effets cytotoxiques sur le pollen d'*Helianthus annuus* L. [102]. L'imprégnation des GP exposés à la pollution urbaine reste toutefois encore à prouver. Par exemple, les HAP traceurs du trafic routier n'ont pas été détectés sur du pollen de *Phleum pratense* collecté à proximité de routes [49].

Pour être tout à fait complet sur la pollution, nous pouvons également mentionner les études portant sur les modifications du pollen consécutivement à des accidents nucléaires (Tchernobyl et Fukushima) par des éléments radioactifs ou par les radiations [103,104].

Le degré de pollution du pollen allergisant par les particules submicroniques est quant à lui complètement inconnu ; la présence de nanoparticules anthropiques en surface de GP allergisants n'a pas été spécifiquement recherchée à notre connaissance. Certains travaux mentionnent la présence de particules submicroniques en surface du pollen sans fournir de comptages systématiques [26] et au moins une étude s'intéresse à l'adsorption de nanoparticules sur le GP et ses effets sur la germination [105].

Enfin, la présence d'espèces réactives de l'oxygène est également un paramètre intéressant à surveiller dans le pollen allergisant, d'une part pour quantifier les effets de la pollution sur le pollen et les plantes (bioindication), et d'autre part, car ces composés très réactifs pourraient jouer un rôle primordial en produisant des réactions d'inflammation et des dommages cellulaires lors de l'inhalation de GP [106]. Des études ont montré l'effet d'une exposition à la pollution sur le stress oxydant au sein de GP. Par exemple, des plantes (*Lolium perenne*) exposées dans une ville plus polluée en NO₂ et SO₂ ont montré une activité photosynthétique amoindrie et un niveau de stress oxydatif plus élevé par rapport aux plantes qui ont poussé dans une atmosphère moins chargée en ces polluants. Les GP issus des plantes stressées par la pollution ont présenté un niveau d'activité de l'oxydase NADPH plus élevé et des taux de H₂O₂ plus importants [107]. Dans une étude de fumigation de pollen d'*Ambrosia artemisiifolia* à l'ozone, Pasqualini et al. (2011) ont également mis en évidence une augmentation de l'oxydase NADPH bien que les espèces réactives de l'oxygène n'ont pas été modifiées dans le pollen [108].

10. Conclusion : une connaissance encore incomplète des effets de la pollution atmosphérique sur le grain de pollen

Les altérations du GP par la pollution atmosphérique sont multiples : des modifications morphologiques en termes de taille ou de fragilité du grain, des changements dans la composition chimique et en particulier la présence de métaux, l'adhésion de particules atmosphériques en surface

du GP et la modification des fractions lipidique et protéique. Les mécanismes moléculaires à l'œuvre lors de la réactivité de polluants avec le pollen commencent par ailleurs à être mieux connus (réactivité des protéines et des lipides) ouvrant la voie à une nouvelle discipline des sciences de l'atmosphère : la biochimie atmosphérique.

La littérature regorge d'exemples de modifications de GP provenant d'un grand nombre d'espèces végétales et soumis à un ensemble de polluants très divers (SO₂, NO_x, CO, CO₂, O₃, particules, HAP, pesticides, métaux...) mais les études systématiques englobant soit un même type de GP soit un grand nombre de polluants (seuls ou en mélange) font toutefois défaut. Des différences de susceptibilités entre espèces végétales sont en effet avérées [2,58] et les effets de synergie entre polluants sont trop rarement étudiés (effet cocktail). Dans une expérience où des plants de *Phleum pratense* L. ont été cultivés avec différents niveaux de CO₂ et d'O₃ [109], il a été démontré de façon flagrante l'importance d'une étude simultanée de ces deux polluants. En effet, le dioxyde de carbone augmente considérablement la quantité de GP produite alors que l'ozone diminue significativement la quantité de l'allergène Phl p 5. Il est clair qu'une tentative d'estimation des niveaux futurs d'allergènes dans l'atmosphère doit prendre en compte ces effets antagonistes perturbant à la fois le nombre de GP émis et leur charge en allergènes.

Il est donc désormais acquis que les GP sont altérés par la pollution réelle ou simulée en laboratoire. Mais une question primordiale demeure : quel est l'état de pollution (fraction de GP pollués et amplitude de la pollution sur ces GP) du pollen respiré quotidiennement ? Cette question en appelle une autre : quelle est l'influence de l'état de pollution du pollen sur la sensibilisation allergique et sur la sévérité des symptômes ? La connaissance de l'exposition individuelle (exposome) est un enjeu majeur pour éclaircir le rôle suspecté de la pollution dans la survenue des maladies respiratoires allergiques. L'analyse automatisée et à l'échelle du GP est un challenge technique nécessaire à relever pour répondre à ces questions. Les travaux sur l'analyse élémentaire du GP en MEB-EDX [26], sur l'adhésion de particules atmosphériques en surface du GP [87] ou encore sur la quantification dans l'atmosphère de la fraction de GP vidés de leur contenu cytoplasmique [110] sont des premières approches à l'analyse des pollens à l'échelle du grain individuel suite à un prélèvement atmosphérique. Ces analyses ne permettent toutefois pas à

l'heure actuelle de déterminer les modifications chimiques sur les lipides ou les protéines à l'échelle du GP. Des modifications dans les spectres Raman ont été mises en évidence à l'échelle du GP (*Broussonetia papyfera*) individuel en lévitation optique, montrant l'apport de techniques permettant l'analyse de la modification chimique à l'échelle du grain, même si celles-ci sont encore restreintes à l'exposition à de fortes doses de polluants reçues en laboratoire [111].

L'analyse des GP et de leur état de pollution n'est toutefois pas suffisante pour caractériser l'exposition individuelle car celle-ci doit impérativement être couplée à l'analyse des allergènes dans la fraction PM₁₀ de l'aérosol atmosphérique [112–117]. Des études ont en effet montré que les symptômes allergiques sont mieux corrélés avec l'exposition aux allergènes dans l'aérosol atmosphérique qu'avec les comptes polliniques [118,119]. Ainsi, pendant la saison pollinique du bouleau, l'allergène majeur Bet v 1 a été principalement détecté dans la fraction PM₁₀ des particules atmosphériques prélevées dans l'air de Berlin [120]. A l'instar du pollen de bouleau, le pollen de cèdre du Japon (*Cryptomeria japonica*) a un fort potentiel allergisant et est responsable non seulement de la pollinose mais également de l'asthme allergique [121]. Lors de prélèvements de particules atmosphériques effectués à proximité d'une route dans un quartier résidentiel pendant des épisodes de transport de poussières désertiques asiatiques survenus juste après des précipitations, l'allergène majeur Cry j 1 a été retrouvé majoritairement dans la fraction PM_{1.1} (particules de diamètre aérodynamique médian inférieur à 1,1 µm), c'est-à-dire dans la fraction respirable de l'aérosol dite alvéolaire [122]. Il est primordial d'étudier plus en détail les mécanismes de dissémination des allergènes de pollen pour clarifier en particulier l'impact de la pollution atmosphérique sur leur biodisponibilité [84,123].

Enfin, certaines difficultés inhérentes à l'échantillon 'grain de pollen' méritent d'être rappelées. L'utilisation de pollen récolté sur un petit nombre de plantes peut poser des problèmes de représentativité de l'échantillon. Des effets confondants existent, tels que la pollution du sol [124,125], les retombées humides, les conditions météorologiques et également l'état de santé des végétaux (voir les études sur le microbiome [126–128] et sur la contamination des plantes par des champignons et l'influence sur l'allergénicité du pollen [56]). De plus, les études sur le

‘vieillissement’ atmosphérique du GP restent relativement peu nombreuses au vu de l’ampleur de la tâche et de la prévalence des maladies allergiques respiratoires. Les études sur l’altération du GP par la pollution atmosphérique sont en effet contraintes par la disponibilité limitée de l’aérosol pollen (quelques semaines par an) et la conservation de l’échantillon, qui n’est pas sans conséquence, a minima sur ses propriétés biologiques.

Déclaration de liens d’intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d’intérêts.

Remerciements

Les auteurs remercient l’Université de Lille et l’Institut de Recherches Pluridisciplinaires en Sciences de l’Environnement (IRePSE Fed 4129) pour leur soutien financier. Le projet CaPPA (Propriétés Chimiques et Physiques de l’Atmosphère) est financé par l’Agence Nationale de la Recherche (ANR) à travers le PIA (Programme d’Investissement d’Avenir) sous le contrat ANR-11-LABX-005-01. Ce travail est une contribution au projet de recherche du CPER CLIMIBIO. Les auteurs remercient le Ministère français de l’Enseignement Supérieur et de la Recherche, la Région des Hauts de France et le Fonds Européen de Développement Economique Régional pour leur soutien financier à ce travail.

Bibliographie

- [1] D’Amato M, Cecchi L, Annesi-Maesano I, D’Amato G. News on Climate Change, Air Pollution, and Allergic Triggers of Asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2018;28:91–7. doi:10.18176/jiaci.0228.
- [2] Frank U, Ernst D. Effects of NO₂ and Ozone on Pollen Allergenicity. *Plant Physiol* 2016;7:91.
- [3] Kim K-H, Jahan SA, Kabir E. A review on human health perspective of air pollution with respect to allergies and asthma. *Environ Int* 2013;59:41–52.
- [4] Kopferschmitt-Kubler MC, Pauli G. Pollens et pollution. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* 1999;39:283–8.
- [5] Laaidi M, Chinet T, Aegerter P. Allergies au pollen, pollution et climat : revue de la littérature. *Rev Fr Allergol* 2011;51:622–8.
- [6] Reinmuth-Selzle K, Kampf CJ, Lucas K, Lang-Yona N, Fröhlich-Nowoisky J, Shiraiwa M, et al. Air Pollution and Climate Change Effects on Allergies in the Anthropocene: Abundance, Interaction, and Modification of Allergens and Adjuvants. *Environ Sci Technol* 2017;51:4119–41. doi:10.1021/acs.est.6b04908.
- [7] Schiavoni G, D’Amato G, Afferni C. The dangerous liaison between pollens and pollution in respiratory allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2017;118:269–75.
- [8] Sedghy F, Varasteh A-R, Sankian M, Moghadam M. Interaction Between Air Pollutants and Pollen Grains: The Role on the Rising Trend in Allergy. *Rep Biochem Mol Biol* 2018;6:219–24.

- [9] Sénéchal H, Visez N, Charpin D, Shahali Y, Peltre G, Bioley J-P, et al. A Review of the Effects of Major Atmospheric Pollutants on Pollen Grains, Pollen Content and Allergenicity. *Sci World J* 2015;2015:ID 940243.
- [10] Shahali Y, Poncet P, Sénéchal H. Pollinose aux Cupressacées et pollution atmosphérique. *Rev Fr Allergol* 2013;53:468–72.
- [11] Choël M, Visez N. Le pollen allergisant dopé par le changement climatique. *The Conversation* n.d. <http://theconversation.com/le-pollen-allergisant-dope-par-le-changement-climatique-117640> (accessed September 20, 2019).
- [12] Carneiro M, Ribeiro F, Fernandes-Filho F, Lobo D, Barbosa Jr F, Rhoden C, et al. Pollen abortion rates, nitrogen dioxide by passive diffusive tubes and bioaccumulation in tree barks are effective in the characterization of air pollution. *Environ Exp Bot* 2011;72:272–7.
- [13] Cuinica LG, Abreu I, Esteves da Silva J. Effect of Air Pollutant NO₂ on *Betula pendula*, *Ostrya carpinifolia* and *Carpinus betulus* Pollen Fertility and Human Allergenicity. *Environ Pollut* 2014;186:50–5. doi:10.1016/j.envpol.2013.12.001.
- [14] Cuinica LG, Abreu I, Silva JGE. In Vitro Exposure of *Ostrya carpinifolia* and *Carpinus betulus* Pollen to Atmospheric Levels of CO, O₃ and SO₂. *Environ Sci Pollut Res* 2013:1–7. doi:10.1007/s11356-013-2108-9.
- [15] Cuinica LG, Abreu I, Gomes CR, Esteves da Silva JCG. Exposure of *Betula pendula* Roth pollen to atmospheric pollutants CO, O₃ and SO₂. *Grana* 2013;52:299–304. doi:10.1080/00173134.2013.830145.
- [16] Ferreira B, Ribeiro H, Pereira MS, Cruz A, Abreu I. Effects of ozone in *Plantago lanceolata* and *Salix atrocinerea* pollen. *Aerobiologia* 2015;32:421–30. doi:10.1007/s10453-015-9415-1.
- [17] Wang X, Zhang S, Gao Y, Lü W, Sheng X. Different heavy metals have various effects on *Picea wilsonii* pollen germination and tube growth. *Plant Signal Behav* 2015;10:e989015. doi:10.4161/15592324.2014.989015.
- [18] Wolters J, Martens M. Effects of Air Pollutants on Pollen. *Bot Rev* 1987;53:372–414.
- [19] Kumari A, Papenfus HB, Kulkarni MG, Pošta M, Van Staden J. Effect of smoke derivatives on in vitro pollen germination and pollen tube elongation of species from different plant families. *Plant Biol* 2015;17:825–30. doi:10.1111/plb.12300.
- [20] Zhao F, Heller W, Stich S, Durner J, Winkler JB, Traidl-Hoffmann C, et al. Effects of NO₂ on Inflorescence Length, Pollen/Seed Amount and Phenolic Metabolites of Common Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.). *Am J Plant Sci* 2017;08:2860. doi:10.4236/ajps.2017.811194.
- [21] Yousefi N, Chehregani A, Malayeri B, Lorestani B, Cheraghi M. Investigating the Effect of Heavy Metals on Developmental Stages of Anther and Pollen in *Chenopodium botrys* L. (Chenopodiaceae). *Biol Trace Elem Res* 2011;140:368–76. doi:10.1007/s12011-010-8701-6.
- [22] Amjad L, Shafiqhi M. The Effect of Air Pollution on *Chenopodium album* L. Pollen Structure. *J Agric Sci Technol A* 2012;2:143–8.
- [23] Azzazy M. Environmental Impacts of Industrial Pollution on Pollen Morphology of *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae). *J Appl Biol Biotechnol Vol* 2016;4:057–62.
- [24] Ouyang Y, Xu Z, Fan E, Li Y, Zhang L. Effect of Nitrogen Dioxide and Sulfur Dioxide on Viability and Morphology of Oak Pollen. *Int Forum Allergy Rhinol* 2016;6:95–100. doi:10.1002/alr.21632.
- [25] Shahali Y, Pourpak Z, Moin M, Zare A, Majd A. Impacts of Air Pollution Exposure on the Allergenic Properties of Arizona Cypress Pollens. *J Phys Conf Ser* 2009;151:012027.
- [26] Visez N, Ivanovsky A, Roose A, Gosselin S, Sénéchal H, Poncet P, et al. Atmospheric particulate matter adhesion onto pollen: A review. *Aerobiologia* 2019;accepted.
- [27] Bianchimano A, Murray M, Aztiria M, Montes B, Calfuán M, Prat M. Morphological and immunochemical characterization of the pollen grains of *Chenopodium album* L. (Chenopodiaceae) in a temperate urban area in Argentina. *FYTON* 2014;9457:9–15.
- [28] Depciuch J, Kasprzyk I, Roga E, Parlinska-Wojtan M. Analysis of morphological and molecular composition changes in allergenic *Artemisia vulgaris* L. pollen under traffic pollution using

- SEM and FTIR spectroscopy. *Environ Sci Pollut Res* 2016;1–12. doi:10.1007/s11356-016-7554-8.
- [29] Kalkar Surekha A, Renu J. Effects of industrial pollution on pollen morphology of Cassia species. *Int J Life Sci* 2014;2:17–22.
- [30] Reshetova SA, Solodukhina MA, Yurgenson GA. The interrelation between pollen abnormalities and polymorphism and the increased contents of toxic elements in flowers and flower buds in *Aconogonon angustifolium* (Pall.) Hara. and *Papaver nudicaule* L. *Russ J Ecol* 2015;46:36–42. doi:10.1134/S1067413615010142.
- [31] Rezanejad F. Air Pollution Effects on Structure, Proteins and Flavonoids in Pollen Grains of *Thuja Orientalis* L. (Cupressaceae). *Grana* 2009;48:205–13.
- [32] Naas O, Mendez M, Quijada M, Gosselin S, Farah J, Choukri A, et al. Chemical modification of coating of *Pinus halepensis* pollen by ozone exposure. *Environ Pollut* 2016;214:816–21. doi:10.1016/j.envpol.2016.04.076.
- [33] Chassard G, Choël M, Gosselin S, Vorng H, Petitprez D, Shahali Y, et al. Kinetic of NO₂ Uptake by *Phleum Pratense* Pollen: Chemical and Allergenic Implications. *Environ Pollut* 2015;196:107–13. doi:10.1016/j.envpol.2014.10.004.
- [34] Kanter U, Heller W, Durner J, Winkler JB, Engel M, Behrendt H, et al. Molecular and Immunological Characterization of Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) Pollen after Exposure of the Plants to Elevated Ozone over a Whole Growing Season. *PLoS One* 2013;8:e61518.
- [35] Zhu C, Farah J, Choël M, Gosselin S, Baroudi M, Petitprez D, et al. Uptake of ozone and modification of lipids in *Betula Pendula* pollen. *Environ Pollut* 2018;242:880–6. doi:10.1016/j.envpol.2018.07.025.
- [36] Cerceau-Larrival MT, Cauneau-Pigot A, Bocquel C, Carbonnier-Jarreau M, Derouet L, Verhille A. Elemental analysis of pollen grain surface: relation to allergenic character and use as a pollution marker. *J Trace Microprobe Tech* 1994;12:37–50.
- [37] Cerceau-Larrival MT, Nilsson S, Cauneau-Pigot A, Berggren B, Derouet L, Verhille A-M, et al. The influence of the environment (natural and experimental) on the composition of the exine of allergenic pollen with respect to the deposition of pollutant mineral particles. *Grana* 1991;30:532–45.
- [38] Guimarães F, Duque L, Ribeiro H, Sousa R, Abreu I. Contribution of EPMA to airborne pollen analysis. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng* 2012;32:012009. doi:10.1088/1757-899X/32/1/012009.
- [39] Mousavi F, Shahali Y, Pourpak Z, Majd A, Ghahremaninejad F. Year-to-year variation of the elemental and allergenic contents of *Ailanthus altissima* pollen grains: an allergomic study. *Environ Monit Assess* 2019;191:362. doi:10.1007/s10661-019-7458-4.
- [40] Chropeňová M, Gregušková EK, Karásková P, Příbylová P, Kukučka P, Baráková D, et al. Pine needles and pollen grains of *Pinus mugo* Turra – A biomonitoring tool in high mountain habitats identifying environmental contamination. *Ecol Indic* 2016;66:132–42. doi:10.1016/j.ecolind.2016.01.004.
- [41] Wang X, Gao Y, Feng Y, Li X, Wei Q, Sheng X. Cadmium Stress Disrupts the Endomembrane Organelles and Endocytosis during *Picea wilsonii* Pollen Germination and Tube Growth. *PLoS One* 2014;9:e94721.
- [42] Wang Q, Gong X, Nakamura S, Kurihara K, Suzuki M, Sakamoto K, et al. Air pollutant deposition effect and morphological change of *Cryptomeria japonica* pollen during its transport in urban and mountainous areas of Japan. *Environ Health Risk V Biomed Health* 2009;14:77–89.
- [43] Dahl ÅE. Pollen lipids can play a role in allergic airway inflammation. *Front Immunol* 2018;9. doi:10.3389/fimmu.2018.02816.
- [44] Gilles S, Behrendt H, Ring J, Traidl-Hoffmann C. The Pollen Enigma: Modulation of the Allergic Immune Response by Non-Allergenic, Pollen-Derived Compounds. *Curr Pharm Des* 2012;18:2314–9.

- [45] Bashir MEH, Lui JH, Palnivelu R, Naclerio RM, Preuss D. Pollen Lipidomics: Lipid Profiling Exposes a Notable Diversity in 22 Allergenic Pollen and Potential Biomarkers of the Allergic Immune Response. *PloS One* 2013;8:e57566.
- [46] Mueller GA, Thompson PM, DeRose EF, O'Connell TM, London RE. A metabolomic, geographic, and seasonal analysis of the contribution of pollen-derived adenosine to allergic sensitization. *Metabolomics* 2016;12:187. doi:10.1007/s11306-016-1130-6.
- [47] Beck I, Jochner S, Gilles S, McIntyre M, Buters JT, Schmidt-Weber C, et al. High Environmental Ozone Levels Lead to Enhanced Allergenicity of Birch Pollen. *PloS One* 2013;8:e80147.
- [48] Rezanejad F. Air pollution effects on flavonoids in pollen grains of some ornamental plants. *Turk J Bot* 2012;36:49–54.
- [49] Smiljanic K, Prodic I, Apostolovic D, Cvetkovic A, Veljovic D, Mutic J, et al. In-depth quantitative profiling of post-translational modifications of Timothy grass pollen allergome in relation to environmental oxidative stress. *Environ Int* 2019;126:644–58. doi:10.1016/j.envint.2019.03.001.
- [50] Depciuch J, Kasprzyk I, Sadik O, Parlińska-Wojtan M. FTIR analysis of molecular composition changes in hazel pollen from unpolluted and urbanized areas. *Aerobiologia* 2016:1–12. doi:10.1007/s10453-016-9445-3.
- [51] Traidl-Hoffmann C, Jakob T, Behrendt H. Determinants of Allergenicity. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:558–66.
- [52] Traidl-Hoffmann C, Kasche A, Menzel A, Jakob T, Thiel M, Ring J, et al. Impact of pollen on Human Health: more than Allergen Carriers? *Int Arch Allergy Immunol* 2003;131:1–13.
- [53] Shahali Y, Dadar M. Plant food allergy: Influence of chemicals on plant allergens. *Food Chem Toxicol* 2018;115:365–74. doi:10.1016/j.fct.2018.03.032.
- [54] Bryce M, Drews O, Schenk M, Menzel A, Estrella N, Weichenmeier I, et al. Impact of urbanization on the proteome of birch pollen and its chemotactic activity on human granulocytes. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;151:46–55.
- [55] Ghiani A, Aina R, Asero R, Bellotto E, Citterio S. Ragweed pollen collected along high traffic roads shows a higher allergenicity than pollen sampled in vegetated areas. *Allergy* 2012;67:887–94.
- [56] Garcia-Gallardo MV, Algorta J, Longo N, Espinel S, Aragonés A, Lombardero M, et al. Evaluation of the Effect of Pollution and Fungal Disease on *Pinus radiata* Pollen Allergenicity. *Int Arch Allergy Immunol* 2013;160:241–50.
- [57] Duque L, Guimarães F, Ribeiro H, Sousa R, Abreu I. Airborne *Platanus* Pollen Analysis by EPMA. *Microsc Microanal* 2012;18:39–40.
- [58] Ribeiro H, Duque L, Sousa R, Cruz A, Gomes C, Esteves da Silva J, et al. Changes in the IgE-reacting protein profiles of *Acer negundo*, *Platanus x acerifolia* and *Quercus robur* pollen in response to ozone treatment. *Int J Environ Health Res* 2014:1–13. doi:10.1080/09603123.2013.865716.
- [59] Ribeiro H, Duque L, Sousa R, Abreu I. Ozone Effects on Soluble Protein Content of *Acer Negundo*, *Quercus Robur* and *Platanus* spp. Pollen. *Aerobiologia* 2013:1–5.
- [60] Shahali Y, Pourpak Z, Moin M, Mari A, Majd A. Instability of the structure and allergenic protein content in Arizona cypress pollen. *Allergy* 2009;64:1773–9.
- [61] Eckl-Dorna J, Klein B, Reichenauer TG, Niederberger V, Valenta R. Exposure of rye (*Secale cereale*) cultivars to elevated ozone levels increases the allergen content in pollen. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:1315–7.
- [62] Lu S, Ren J, Hao X, Liu D, Zhang R, Wu M, et al. Characterization of Protein Expression of *Platanus* Pollen Following Exposure to Gaseous Pollutants and Vehicle Exhaust Particles. *Aerobiologia* 2014;30:281–91.
- [63] Sedghy F, Sankian M, Moghadam M, Varasteh A-R. Quantification of Pla or 3, a *Platanus orientalis* Allergen, Grown under Different Environmental Conditions, by Sandwich ELISA. *Rep Biochem Mol Biol* 2016;5:40–5.

- [64] Hong Q, Zhou S, Zhao H, Peng J, Li Y, Shang Y, et al. Allergenicity of recombinant *Humulus japonicus* pollen allergen 1 after combined exposure to ozone and nitrogen dioxide. *Environ Pollut* 2018;234:707–15. doi:10.1016/j.envpol.2017.11.078.
- [65] Ackaert C, Kofler S, Horejs-Hoeck J, Zulehner N, Asam C, von Grafenstein S, et al. The Impact of Nitration on the Structure and Immunogenicity of the Major Birch Pollen Allergen Bet v 1.0101. *PLoS ONE* 2014;9:e104520. doi:10.1371/journal.pone.0104520.
- [66] Karle AC, Oostingh GJ, Mutschlechner S, Ferreira F, Lackner P, Bohle B, et al. Nitration of the Pollen Allergen Bet v 1.0101 Enhances the Presentation of Bet v 1-Derived Peptides by HLA-DR on Human Dendritic Cells. *PLoS One* 2012;7:e31483.
- [67] Liu F, Lakey P, Berkemeier T, Tong H, Kunert AT, Meusel H, et al. Atmospheric protein chemistry influenced by anthropogenic air pollutants: nitration and oligomerization upon exposure to ozone and nitrogen dioxide. *Faraday Discuss* 2017;200:413–27. doi:10.1039/C7FD00005G.
- [68] Meusel H, Elshorbany Y, Kuhn U, Bartels-Rausch T, Reinmuth-Selzle K, Kampf CJ, et al. Light-induced protein nitration and degradation with HONO emission. *Atmos Chem Phys* 2017;17:11819–33. doi:10.5194/acp-17-11819-2017.
- [69] Reinmuth-Selzle K, Ackaert C, Kampf CJ, Samonig M, Shiraiwa M, Kofler S, et al. Nitration of the birch pollen allergen Bet v 1.0101: efficiency and site-selectivity of liquid and gaseous nitrating agents. *J Proteome Res* 2014;13:1570–7. doi:10.1021/pr401078h.
- [70] Sandhiya L, Kolandaivel P, Senthilkumar K. Oxidation and Nitration of Tyrosine by Ozone and Nitrogen Dioxide: Reaction Mechanisms and Biological and Atmospheric Implications. *J Phys Chem B* 2014;118:3479–90. doi:10.1021/jp4106037.
- [71] Shiraiwa M, Selzle K, Yang H, Sosedova Y, Ammann M, Pöschl U. Multiphase Chemical Kinetics of the Nitration of Aerosolized Protein by Ozone and Nitrogen Dioxide. *Environ Sci Technol* 2012;46:6672–80. doi:10.1021/es300871b.
- [72] Kampf CJ, Liu F, Reinmuth-Selzle K, Berkemeier T, Meusel H, Shiraiwa M, et al. Protein Cross-Linking and Oligomerization through Dityrosine Formation upon Exposure to Ozone. *Environ Sci Technol* 2015;49:10859–66. doi:10.1021/acs.est.5b02902.
- [73] Zhao F, Elkelish A, Durner J, Lindermayr C, Winkler JB, Ruëff F, et al. Common Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.): Allergenicity and Molecular Characterization of Pollen after Plant Exposure to Elevated NO₂. *Plant Cell Environ* 2015;10.1111/pce.12601. doi:10.1111/pce.12601.
- [74] Estillore AD, Trueblood JV, Grassian VH. Atmospheric chemistry of bioaerosols: heterogeneous and multiphase reactions with atmospheric oxidants and other trace gases. *Chem Sci* 2016;7:6604–16. doi:10.1039/C6SC02353C.
- [75] Wang JM Shinichi Nakamura, Di Wu, Xiumin Gong, Miho Suzuki, Makoto Miwa and Daisuke Nakajima. Field Investigation on Modification of Japanese Cedar Pollen Allergen in Urban Air-Polluted Area. *World Acad Sci Eng Technol* 2010;69:624–9.
- [76] Taylor PE, Flagan RC, Miguel AG, Valenta R, Glovsky MM. Birch pollen rupture and the release of aerosols of respirable allergens. *Clin Exp Allergy* 2004;34:1591–6. doi:10.1111/j.1365-2222.2004.02078.x.
- [77] Taylor PE, Flagan RC, Valenta R, Glovsky MM. Release of allergens as respirable aerosols: A link between grass pollen and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:51–6.
- [78] Diethart B, Sam S, Weber M. Walls of allergenic pollen: Special reference to the endexine. *Grana* 2007;46:164–75.
- [79] Motta A, Marliere M, Peltre G, Sterenberg P, Lacroix G. Traffic-Related Air Pollutants Induce the Release of Allergen-Containing Cytoplasmic Granules from Grass Pollen. *Int Arch Allergy Immunol* 2006;139:294–8.
- [80] Staff IA, Schäppi G, Taylor PE. Localisation of allergens in ryegrass pollen and in airborne micronic particles. *Protoplasma* 1999;208:47–57. doi:10.1007/bf01279074.
- [81] Suphioglu C. Thunderstorm Asthma Due to Grass Pollen. *Int Arch Allergy Immunol* 1998;116:253–60.

- [82] Swoboda I, Grote M, Verdino P, Keller W, Singh MB, De Weerd N, et al. Molecular characterization of polygalacturonases as grass pollen-specific marker allergens: expulsion from pollen via submicronic respirable particles. *J Immunol* 2004;172:6490–500.
- [83] Vizez N, Chassard G, Azarkan N, Naas O, Sénéchal H, Sutra J-P, et al. Wind-induced mechanical rupture of birch pollen: Potential implications for allergen dispersal. *J Aerosol Sci* 2015;89:77–84. doi:10.1016/j.jaerosci.2015.07.005.
- [84] ANSES. Etat des Connaissances sur l'Impact Sanitaire Lié à l'Exposition de la Population Générale aux Pollens Présents dans l'Air Ambiant 2014.
- [85] Ring J, Buters J, Behrendt H. 31 - Particulate and Pollen Interactions. In: Adkinson NF, Bochner BS, Burks AW, Busse WW, Holgate ST, Lemanske RF, et al., editors. *Middlet. Allergy Eighth Ed.*, London: Content Repository Only!; 2014, p. 497–507.
- [86] Behrendt H, Friedrich K, Kainka-Stanicke E, Darsow U, Becker W, Tomingas R. Allergens and pollutants in the air- A complex interaction. *New Trends Allergy III* 1991:467.
- [87] Ribeiro H, Guimarães F, Duque L, Noronha F, Abreu I. Characterisation of Particulate Matter on Airborne Pollen Grains. *Environ Pollut* 2015;206:7–16. doi:10.1016/j.envpol.2015.06.015.
- [88] Levetin E. Methods for aeroallergen sampling. *Curr Allergy Asthma Rep* 2004;4:376–83. doi:10.1007/s11882-004-0088-z.
- [89] Duque L, Guimarães F, Ribeiro H, Sousa R, Abreu I. Elemental characterization of the airborne pollen surface using Electron Probe Microanalysis (EPMA). *Atmos Environ* 2013;75:296–302.
- [90] Guedes A, Ribeiro N, Ribeiro H, Oliveira M, Noronha F, Abreu I. Comparison between urban and rural pollen of *Chenopodium alba* and characterization of adhered pollutant aerosol particles. *J Aerosol Sci* 2009;40:81–6.
- [91] Ribeiro H, Duque L, Guimarães F, Abreu I, Noronha F. Airborne Acer pollen wall elemental analysis and adhered particulate matter. *Comun Geológicas* 2014;101:1355–8.
- [92] Cour des comptes européennes. Rapport spécial n° 23/2018: Pollution de l'air: notre santé n'est toujours pas suffisamment protégée. 2018.
- [93] Esposito V, Lucariello A, Savarese L, Cinelli M, Ferraraccio F, Bianco A, et al. Morphology changes in human lung epithelial cells after exposure to diesel exhaust micron sub particles (PM1.0) and pollen allergens. *Environ Pollut* 2012;171:162–7.
- [94] Kanatani KT, Hamazaki K, Inadera H, Sugimoto N, Shimizu A, Noma H, et al. Effect of desert dust exposure on allergic symptoms: A natural experiment in Japan. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2016. doi:10.1016/j.anai.2016.02.002.
- [95] Phosri A, Ueda K, Tasmin S, Kishikawa R, Hayashi M, Hara K, et al. Interactive effects of specific fine particulate matter compositions and airborne pollen on frequency of clinic visits for pollinosis in Fukuoka, Japan. *Environ Res* 2017;156:411–9.
- [96] Skjøth C, Werner M, Baker P, Adams-Groom B. *Saharan Dust, Allergenic Pollen and High Air Pollution: A Detrimental Spring Cocktail for the English Population.*, Cambelltown, Sydney, Australia: 2014.
- [97] Chang T, Fan C, Man Y, Zhou J, Jing Y. Bisphenol A affects germination and tube growth in *Picea meyeri* pollen through modulating Ca²⁺ flux and disturbing actin-dependent vesicular trafficking during cell wall construction. *Plant Physiol Biochem* 2015;94:216–24. doi:10.1016/j.plaphy.2015.06.010.
- [98] Mišík M, Kundi M, Pichler C, Filipic M, Rainer B, Mišíková K, et al. Impact of common cytostatic drugs on pollen fertility in higher plants. *Environ Sci Pollut Res* 2015;1–9. doi:10.1007/s11356-015-4301-5.
- [99] Padilla F, Soria N, Oleas A, Rueda D, Manjunatha B, Kundapur RR, et al. The effects of pesticides on morphology, viability, and germination of Blackberry (*Rubus glaucus* Benth.) and Tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) pollen grains. *3 Biotech* 2017;7:154. doi:10.1007/s13205-017-0781-y.
- [100] Hierro. Assessing the Morphological Variations on the Pollen Grains of *Solanum Betaceum* caused by Chemical, Biological and Ecological Pesticides. *Biol Med* 2016;8. doi:http://dx.doi.org/10.4172/0974-8369.1000286.

- [101] Lubitz S, Schober W, Pusch G, Effner R, Klopp N, Behrendt H, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons from diesel emissions exert proallergic effects in birch pollen allergic individuals through enhanced mediator release from basophils. *Environ Toxicol* 2010;25:188–97. doi:10.1002/tox.20490.
- [102] Baghali Z, Majd A, Chehregani A, Pourpak Z, Ayerian S, Vatanchian M. Cytotoxic effect of benzo (a) pyrene on development and protein pattern of sunflower pollen grains. *Toxicol Environ Chem* 2011;93:665–77.
- [103] Kanasashi T, Sugiura Y, Takenaka C, Hijii N, Umemura M. Radiocesium distribution in sugi (*Cryptomeria japonica*) in Eastern Japan: translocation from needles to pollen. *J Environ Radioact* 2014;139:398–406. doi:10.1016/j.jenvrad.2014.06.018.
- [104] Møller AP, Mousseau TA. Radiation Levels Affect Pollen Viability and Germination among Sites and Species at Chernobyl. *Int J Plant Sci* 2017;178:000. doi:10.1086/692763.
- [105] Aoyagi H, Ugwu CU. Fullerene fine particles adhere to pollen grains and affect their autofluorescence and germination. *Nanotechnol Sci Appl* 2011;4:67.
- [106] Shiraiwa M, Selzle K, Pöschl U. Hazardous components and health effects of atmospheric aerosol particles: reactive oxygen species, soot, polycyclic aromatic compounds and allergenic proteins. *Free Radic Res* 2012;46:927–39.
- [107] Lucas JA, Gutierrez-Albanchez E, Alfaya T, Feo-Brito F, Gutiérrez-Mañero FJ. Oxidative stress in ryegrass growing under different air pollution levels and its likely effects on pollen allergenicity. *Plant Physiol Biochem* 2019;135:331–40. doi:10.1016/j.plaphy.2018.12.018.
- [108] Pasqualini S, Tedeschini E, Frenguelli G, Wopfner N, Ferreira F, D'Amato G, et al. Ozone affects pollen viability and NAD(P)H oxidase release from *Ambrosia artemisiifolia* pollen. *Environ Pollut* 2011;159:2823–30.
- [109] Albertine JM, Manning WJ, DaCosta M, Stinson KA, Muilenberg ML, Rogers CA. Projected Carbon Dioxide to Increase Grass Pollen and Allergen Exposure Despite Higher Ozone Levels. *PLoS ONE* 2014;9:e111712. doi:10.1371/journal.pone.0111712.
- [110] Puc M, Kotrych D, Lipiec A, Rapiejko P, Siemiejko G. Birch pollen grains without cytoplasmic content in the air of Szczecin and Bialystok. *Alergoprofil* 2016;12:101–5.
- [111] Gong Z, Pan Y-L, Videen G, Wang C. Chemical reactions of single optically trapped bioaerosols in a controlled environment. *Aerosol Sci Technol* 2019;53:853–9. doi:10.1080/02786826.2019.1621984.
- [112] De Linares C, Alcázar P, Valle AM, Díaz de la Guardia C, Galán C. Parietaria major allergens vs pollen in the air we breathe. *Environ Res* 2019;176:108514. doi:10.1016/j.envres.2019.05.045.
- [113] Fernández-González M, Ribeiro H, Pereira JRS, Rodríguez-Rajo FJ, Abreu I. Assessment between *Platanus* pollen and Pla a 1 allergen in two cities of North-western Iberian Peninsula. *Aerobiologia* 2019. doi:10.1007/s10453-019-09576-0.
- [114] Fucheng Y, Zheng Z, Yichun L, Yang L, Luying Z, Jiaxian P, et al. Subpollens delivery of *Platanus acerifolia* pollen allergen Pla a3 and nucleic acid into lungs and cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2019. doi:10.1016/j.bbrc.2019.03.210.
- [115] García-Sánchez J, del Mar Trigo M, Recio M. Extraction and quantification of Ole e 1 from atmospheric air samples: An optimized protocol. *Chemosphere* 2019. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.02.155.
- [116] Porcel Carreño S, Gómez Nieves E, Fernández-Caldas E, Abel Fernández E, Cases B, Tudela JI, et al. Immunochemical and physical quantitation of grass and olive pollen allergens and correlation with asthma admissions in Cáceres, Spain. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2019;0. doi:10.18176/jiaci.0434.
- [117] Zhou S, Zhao H, Peng J, Hong Q, Xiao K, Shang Y, et al. Size distribution of *Platanus acerifolia* allergen 3 (Pla a3) in Shanghai ambient size-resolved particles and its allergenic effects. *Atmos Environ* 2019;198:324–34. doi:10.1016/j.atmosenv.2018.10.060.
- [118] Feo Brito F, Gimeno PM, Carnés J, Martín R, Fernández-Caldas E, Lara P, et al. *Olea europaea* pollen counts and aeroallergen levels predict clinical symptoms in patients allergic to olive pollen. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011;106:146–52. doi:10.1016/j.anai.2010.11.003.

- [119] Feo Brito F, Mur Gimeno P, Carnés J, Fernández-Caldas E, Lara P, Alonso AM, et al. Grass pollen, aeroallergens, and clinical symptoms in Ciudad Real, Spain. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010;20:295–302.
- [120] Süring K, Bach S, Bossmann K, Wolter E, Neumann A, Straff W, et al. PM10 contains particle-bound allergens: Dust analysis by Flow Cytometry. *Environ Technol Innov* 2016. doi:10.1016/j.eti.2016.01.004.
- [121] Maeda Y, Akiyama K, Shida T. A Clinical Study of Japanese Cedar (*Cryptomeria japonica*) Pollen-Induced Asthma. *Allergol Int* 2008;57:413–7. doi:10.2332/allergolint.O-08-543.
- [122] Wang Q, Nakamura S, Lu S, Xiu G, Nakajima D, Suzuki M, et al. Release behavior of small sized daughter allergens from *Cryptomeria japonica* pollen grains during urban rainfall event. *Aerobiologia* 2012;28:71–81. doi:10.1007/s10453-011-9212-4.
- [123] Solomon WR. Airborne pollen: A brief life. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:895–900.
- [124] Aina R, Asero R, Ghiani A, Marconi G, Albertini E, Citterio S. Exposure to cadmium contaminated soils increases allergenicity of *Poa annua* L. pollen. *Allergy* 2010;65:1313–21.
- [125] Cloutier-Hurteau B, Gauthier S, Turmel M-C, Comtois P, Courchesne F. Trace elements in the pollen of *Ambrosia artemisiifolia*: What is the effect of soil concentrations? *Chemosphere* 2014;95:541–9. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.09.113.
- [126] Obersteiner A. Pollen associated microbiome and its relationship to pollution and allergens. Text.PhDThesis. Ludwig-Maximilians-Universität München, 2017.
- [127] Obersteiner A, Gilles S, Frank U, Beck I, Häring F, Ernst D, et al. Pollen-Associated Microbiome Correlates with Pollution Parameters and the Allergenicity of Pollen. *PLOS ONE* 2016;11:e0149545. doi:10.1371/journal.pone.0149545.
- [128] Zasloff M. Pollen has a microbiome: implications for plant reproduction, insect pollination and human allergies. *Environ Microbiol* 2017:n/a-n/a. doi:10.1111/1462-2920.13661.