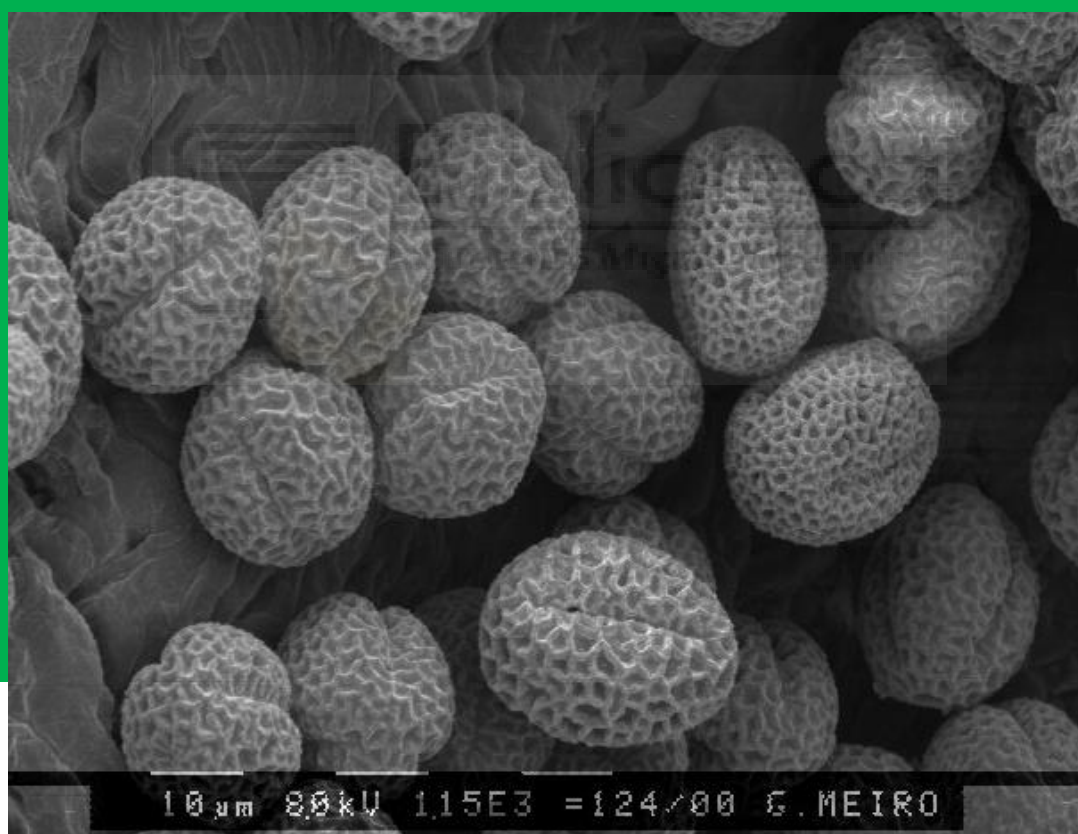


EVALUACIÓN DE LA CONTRIBUCIÓN EXTERNA A LOS NIVELES POLÍNICOS DE *OLEA* EN ALICANTE

TESIS DOCTORAL 2021

ALICE CHARLOTTE VINEY



Departamento de Física Aplicada
Universidad Miguel Hernández de Elche
Programa de doctorado en Medio Ambiente
y Sostenibilidad





Programa de Doctorado en Medio Ambiente y Sostenibilidad

TESIS DOCTORAL

Evaluación de la contribución externa a los niveles polínicos de *Olea* en Alicante

ALICE CHARLOTTE VINEY

Directora de la tesis

Dra. Dña. Montserrat Varea Morcillo

Codirector de la tesis

Dr. D. José Francisco Nicolás Aguilera

Universidad Miguel Hernández de Elche

- 2021 -



La presente Tesis Doctoral, titulada “**Evaluación de la contribución externa a los niveles polínicos de *Olea* en Alicante**”, se presenta bajo la modalidad de **tesis por compendio de publicaciones**. Para ello, se aporta la siguiente publicación:

- Viney, J.F. Nicolás, N. Galindo, J. Fernández, V. Soriano-Gomis, M. Varea.
Assessment of the external contribution to *Olea* pollen levels in southeastern Spain.
Atmospheric Environment, 2021, 257, 118481.
<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2021.118481>.



La Dra. Dña. **Montserrat Varea Morcillo**, directora, y el Dr. D. **José Francisco Nicolás Aguilera**, codirector de la tesis doctoral titulada **“Evaluación de la contribución externa a los niveles polínicos de *Olea* en Alicante”**,

INFORMA/N:

Que Dña. Alice Charlotte Viney ha realizado bajo nuestra supervisión el trabajo titulado **“Evaluación de la contribución externa a los niveles polínicos de *Olea* en Alicante”** conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo al Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmamos para los efectos oportunos, en Elche a 22 de junio de 2021.

Directora de la tesis
Dra. Dña. Montserrat Varea Morcillo

Codirector de la tesis
Dr. D. José Francisco Nicolás Aguilera



El Dr. D. José Navarro Pedreño, Coordinador del Programa de Doctorado en Medio Ambiente y Sostenibilidad,

INFORMA:

Que Dña. Alice Charlotte Viney ha realizado bajo la supervisión de nuestro Programa de Doctorado el trabajo titulado **“Evaluación de la contribución externa a los niveles polínicos de Olea en Alicante”** conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo al Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmo para los efectos oportunos, en Elche a 22 de junio de 2021.

Prof. Dr. D. José Navarro Pedreño
Coordinador del Programa de Doctorado en Medio Ambiente y Sostenibilidad

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no hubiera sido posible sin la ayuda de muchas personas. Quiero agradecer especialmente a todos los que contribuyeron directa e indirectamente a que pudiera realizar esta tesis.

En primer lugar, quiero agradecer a mi directora de tesis y mentora, Dra. Montserrat Varea Morcillo, por su paciencia, esfuerzo y dedicación, y por haberme dado la oportunidad de llevar a cabo uno de mis sueños, conocer el mundo de la investigación. Sin su ayuda y apoyo este proyecto nunca hubiera sido posible.

En segundo lugar, quiero agradecer a Dr. José Francisco Nicolás Aguilera, mi co-director de tesis, por su ayuda, orientación y apoyo a lo largo de todo este trabajo.

A mi tutora, Dra. Nuria Galindo Corral y a los otros miembros del departamento de Física Aplicada, quienes me han hecho sentir como parte del equipo.

Por último, pero no por ello menos importante, gracias a mi familia y amigos que han supuesto un apoyo moral muy importante durante estos años, ayudándome a superarme y dándome valor y confianza en mí misma, sabéis quienes sois.

Javi, gracias por tu amor, paciencia y apoyo incondicional, y por cuidar de nuestro pequeño Andresito para que pudiera finalizar este proyecto. Gracias a los dos por animarme y hacerme sonreír en los momentos más difíciles.

Mamá, estos últimos años sin ti han sido difíciles, pero sé que has estado cuidándome desde donde estés. Gracias por enseñarme ser valiente y luchar por lo que quiero. Esta tesis te la dedico a ti.

ÍNDICE

RESUMEN	13
ABSTRACT	15
1. Introducción	17
1.1. Alergia al polen	18
1.2. <i>Olea</i>	22
2. Objetivos	25
3. Materiales y métodos	27
3.1. Área de estudio y potenciales regiones fuente de polen de <i>Olea</i>	27
3.2. Datos polínicos y meteorológicos.....	28
3.3. Análisis de datos.....	31
4. Resultados y discusión	35
5. Conclusiones y líneas de investigación futuras	39
6. Bibliografía	41
ANEXO. Assessment of the external contribution to <i>Olea</i> pollen in southeastern Spain.....	49

RESUMEN

En los últimos años se ha registrado un incremento sustancial en el número de pacientes sensibilizados al polen de *Olea* en la provincia de Alicante, a pesar de tener ésta una baja densidad de cultivo del olivo. El presente trabajo de investigación busca determinar las características aerbiológicas del polen de *Olea* en la zona de Alicante (2010-2015), e identificar y cuantificar el transporte del mismo desde otras regiones de origen, definiendo para ello un nuevo parámetro denominado Índice Polínico Externo (EPI, del inglés o *external pollen index*). El estudio también pretende establecer los niveles de exposición al polen de *Olea* en la ciudad de Alicante mediante una nueva metodología basada en percentiles estadísticos.

Los niveles anuales de polen de *Olea* registrados en Alicante mostraron: concentraciones máximas durante el mes de mayo, poca correlación con los factores meteorológicos locales y una importante contribución procedente de áreas fuente situadas en el oeste de la Península Ibérica. En base a ello, el EPI se definió como la suma de las aportaciones de polen transportado por masas de aire procedentes del suroeste y noroeste de España. La contribución de aportes foráneos se obtuvo mediante análisis clúster. La buena correlación entre el EPI y la concentración polínica anual (API_n annual pollen integral) (R^2 0,818; p-valor 0,013) sugiere que el aporte total de polen de las regiones del oeste puede ser un buen predictor del API_n del polen de *Olea* registrado en Alicante. Se ha estimado que, en ausencia de las citadas contribuciones externas, la concentración anual de polen de *Olea* en el área de estudio se establece alrededor de 1300 polen/m³. De la citada metodología basada en percentiles, se pudieron determinar los niveles de exposición para el polen de *Olea* en la ciudad de Alicante, los cuales fueron: bajo (<20 polen/m³), moderado (20–50 polen/m³), alto (51–100 polen/m³) y muy alto (>100 polen/m³). Los niveles de exposición altos y muy altos se asociaron con contribuciones del noroeste y suroeste peninsular respectivamente.

Las investigaciones futuras deberían considerar las contribuciones EPI en los modelos de predicción para obtener una mejor estimación de los niveles de polen en Alicante y, en consecuencia, mejorar la información proporcionada a la población alérgica.

ABSTRACT

In recent years there has been a substantial increase in the number of patients with allergic sensitization to *Olea* pollen in the province of Alicante located in southeastern Spain, despite there being a low density of olive cultivation. The present investigation seeks to determine the aerobiological characteristics of *Olea* pollen in the city of Alicante (2010-2015), and identify and quantify the transport of *Olea* pollen from other source regions, defining a new parameter called External Pollen Index (EPI). This study also aims to define the *Olea* pollen exposure levels in Alicante by means of a new method based on statistical percentiles.

The annual levels of olive pollen registered in Alicante showed: maximum concentrations in the month of May, low correlation with local meteorological parameters and significant contribution to the pollen levels from the Western Iberian Peninsula. Thus, the EPI is defined as the sum of the contributions of pollen transported by air masses from southwestern and northwestern Spain. These external contributions were obtained by cluster analysis. The good lineal correlation between the EPI and the annual pollen integral (API_n) ($R^2=0,818$; p-value 0,013) suggests that the total contribution of pollen from western regions may be a good predictor of the API_n of *Olea* pollen registered in Alicante. It has been estimated that, in the absence of external contributions, the annual *Olea* pollen levels in the study area would be around 1300 pollen/m³. The following *Olea* pollen exposure levels were determined in Alicante using a new method based on statistical percentiles: Low (<20 pollen/m³), Moderate (20–50 pollen/m³), High (51–100 pollen/m³) and Very High (>100 pollen/m³). High and very high exposure levels were associated with northwestern and southwestern contributions, respectively.

Future research should consider EPI contributions in prediction models in order to get a better estimation of pollen levels in Alicante and, consequently, improve the information provided to the allergic population.

1. Introducción

Los granos de polen transportados por el aire son ampliamente conocidos por ser uno de los factores de alergia más importantes que afectan la salud humana. En Europa se ha observado un aumento de la prevalencia de alergias de hasta un 40% debido a varias causas antropogénicas, como la urbanización excesiva, el aumento de la contaminación del aire, el uso frecuente de plantas productoras de polen alergénico y una distribución desigual de la población humana (D'Amato, et al., 2007).

En general, existe un aumento en la incidencia de enfermos con alergias respiratorias a nivel mundial. Las causas de dicho aumento, aunque no se conocen con certeza, apuntan hacia aspectos que tienen que ver tanto con el individuo como con factores ambientales de carácter biológico y meteorológico, además, de los antropogénicos. Las enfermedades alérgicas representan un problema de salud global que no solo reducen significativamente la calidad de vida de la población alérgica, sino que también tienen un impacto económico significativo en la sociedad (Zuberbier, et al., 2014).

Aunque es más que evidente la importancia del polen, concretamente, en Alicante los estudios realizados son muy escasos, habiéndose observado un aumento sustancial del número de pacientes con sensibilización alérgica al polen en Elche. En ausencia de un estudio aerobiológico más amplio, dicho aumento se insinúa que podría deberse al registro de días con concentraciones elevadas (Fernández, et al., 2015). Así, en este trabajo se realiza un amplio estudio aerobiológico en la ciudad de Alicante, situada aproximadamente a 20 km de Elche. El estudio se centra en el polen de *Olea*, taxón que describe el mayor aumento en la sensibilización de la población ilicitana, pasando a ser la principal causa de polinosis en la zona.

A continuación, para proporcionar un marco de referencia a los resultados observados, se describen brevemente el proceso de alergia al polen y el taxón de *Olea*.

1.1. Alergia al polen

La polinosis es una enfermedad que se presenta normalmente durante la primavera-verano, causada por una reacción alérgica frente a los pólenes. En general, las alergias aparecen cuando el sistema inmunitario reacciona, ante una partícula o sustancia que percibe como extraña, produciendo una respuesta inmunológica específica. Esta respuesta se caracteriza principalmente por la producción de anticuerpos específicos (inmunoglobulinas tipo E o IgE), que identifican al alérgeno como dañino y se fijan a la superficie de determinadas células del sistema inmune. En el caso concreto de los pólenes, estos llegan a nuestro organismo a través de las mucosas expuestas al aire que nos rodea y respiramos, es decir, la conjuntiva ocular, la nasal y la del árbol bronquial. En dichas mucosas se encuentran los mastocitos, células del sistema inmune, que en individuos sensibilizados al polen tendrán fijadas en su superficie las IgE específicas para reconocer al polen. Así, ante una nueva entrada de polen, estas lo reconocerán y atraparán provocando la liberación de ciertas sustancias, como la histamina, y, en consecuencia, los síntomas clínicos de las enfermedades alérgicas (Figura 1). Según el órgano afectado, estas son: conjuntivitis (ojos), rinitis (nariz) y asma (bronquios), que pueden aparecer de forma simultánea en el mismo individuo, o predominar únicamente los síntomas de una de ellas.

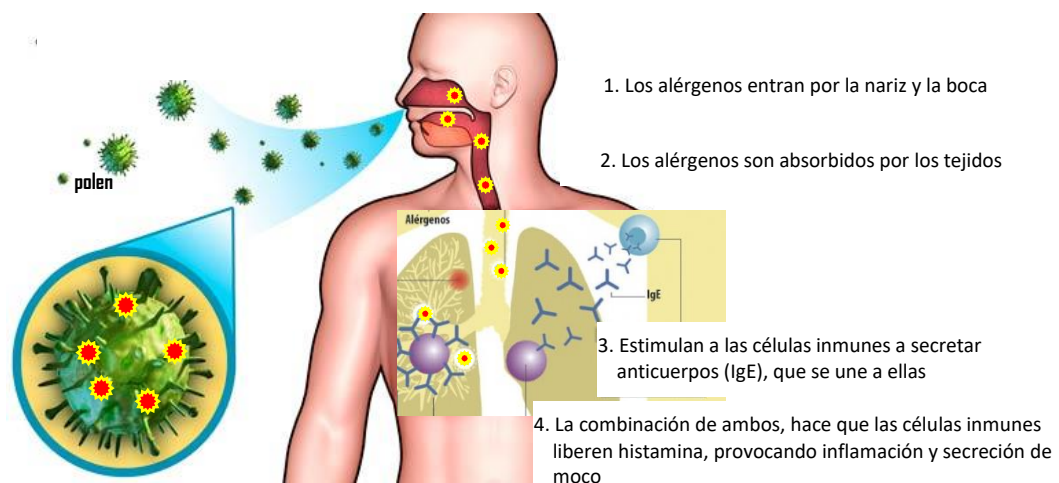


Figura 1. Representación esquemática de la reacción del sistema inmune ante la entrada del polen y, en consecuencia, sus alérgenos. Imagen adaptada de <http://defensaeninfeccion.blogspot.com/2017/05/vias-de-diseminacion-de-agentes.html>.

Las sustancias que tienen capacidad alérgica, no son los propios pólenes, sino los alérgenos que contienen, los cuales son capaces de inducir una respuesta inmunológica más o menos intensa dependiendo de múltiples factores como, por ejemplo, su tamaño, su solubilidad y/o su estructura espacial. Así, los alérgenos polínicos son proteínas, glicoproteínas o lipoproteínas de bajo peso molecular, que entran en el organismo tras ser difundidos a través de la pared del polen cuando este entra en contacto con un medio húmedo, como las mucosas. Por otro lado, los granos de polen se pueden fragmentar osmóticamente en la atmósfera, a causa de su hidratación debido a una elevada humedad ambiental o la lluvia, generando partículas más pequeñas que transportan a los alérgenos (Solomon, 2002).

El tamaño es uno de los factores que está directamente relacionado con la alergenidad de una molécula o partícula inhalada, ya que un menor tamaño permitiría una mayor penetración en las vías respiratorias. Así, las partículas con un diámetro aerodinámico $>10\ \mu\text{m}$, pueden depositarse en diferentes zonas de la buco-faringe. Mientras que, otras más pequeñas pueden penetrar hasta las vías respiratorias centrales ($2,5\text{-}10\ \mu\text{m}$), o llegar a los alvéolos ($<2,5\ \mu\text{m}$) (Figura 2) (EPA, 2004).

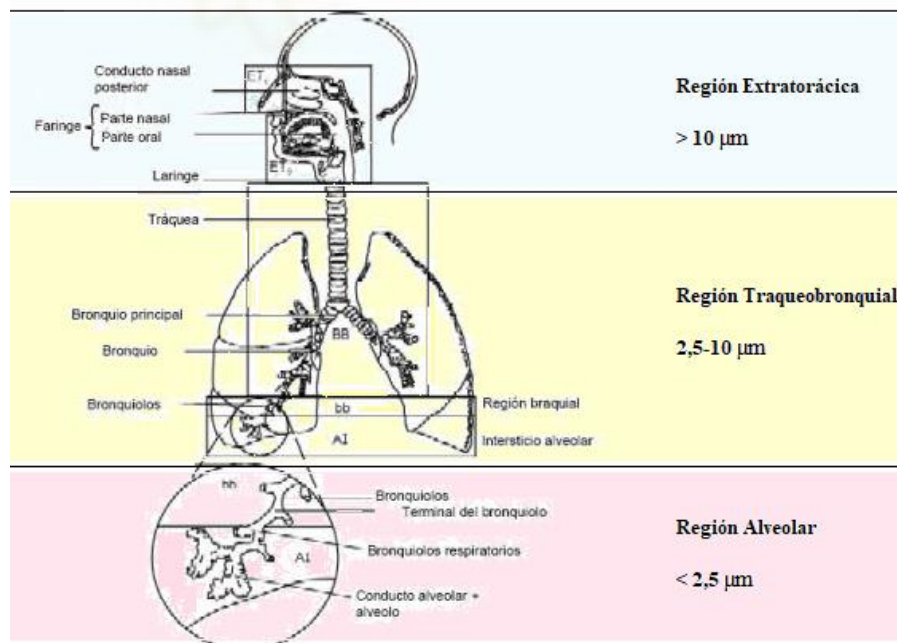


Figura 2. Regiones del aparato respiratorio humano y capacidad de penetración de las partículas según su tamaño. Imagen adaptada de EPA, 2004.

Según el tamaño de los granos de polen, la probabilidad de que estos penetren más allá de la región extratorácica es escasa y, por tanto, sus alérgenos difundirán rápidamente a sus mucosas produciendo síntomas conjuntivales y/o nasales. Mientras que sus fragmentos, de menor tamaño, podrían llegar hasta las vías aéreas más bajas con el consiguiente desarrollo de síntomas asmáticos, además de los anteriores. Asimismo, existen estudios que indican que la presencia combinada de partículas contaminantes y polen, puede generar un incremento en el número de pacientes alérgicos y una exacerbación de los síntomas (Konishi, et al., 2014). Las partículas contaminantes unidas al polen pueden desencadenar reacciones químicas que modifican las sustancias proteicas del polen aumentando su capacidad alérgica (Emberlin, 1995; Reinmuth-Selzle, et al., 2017). Por otro lado, las partículas contaminantes pueden actuar como transportadores de alérgenos polínicos, arrastrándolos hacia lo más profundo de las vías respiratorias (Ormstad, 2000; Namork, et al., 2006).

La alergia al polen no tiene cura, pero la población alérgica puede tomar medidas preventivas para reducir los síntomas y aumentar su calidad de vida, como evitar la exposición en los días de máxima concentración. Para ello deben conocer la época principal de polinización de los distintos tipos de polen alérgicos en su hábitat y su concentración en el aire. Esta información, además, es útil para los profesionales clínicos para pautar y ajustar adecuadamente los tratamientos farmacológicos a sus pacientes alérgicos, para que estos pueden iniciarlo de manera precoz para evitar el empeoramiento de los síntomas ya que una vez iniciados, éstos continuarán manifestándose a lo largo de toda la temporada de polen (Targonski, et al., 1995).

Actualmente, a través de las sociedades y asociaciones aerobiológicas y alergológicas a nivel regional y nacional se realiza el seguimiento de las concentraciones polínicas en el aire. Estas entidades realizan de forma sistemática el recuento polínico, mediante la toma de muestras con captadores volumétricos y su, posterior, análisis por microscopía óptica. La identificación y recuento de los distintos pólenes se realiza de forma individualizada y según su morfología (Galán, et al., 2007). A través de esta metodología solo se contabilizan los granos de polen íntegros, pero no los fragmentos que puedan estar presentes en el aerosol atmosférico. Estos podrían ser la consecuencia de que los síntomas, sobre todo el asma, no concuerden, con los recuentos polínicos, sobre todo en

aquellas zonas donde los recuentos no son muy elevados (Sánchez-Mesa, et al., 2005; Moreno-Grau, et al., 2006; Negrini, et al., 2011; Plaza, et al., 2016). Por ello, surge el concepto de carga alérgica o concentración de alérgenos polínicos en el aire, cuya cuantificación precisa de métodos inmunoquímicos. Estos junto con los recuentos polínicos permitirían un mayor acercamiento a la realidad aerobiológica de cada zona geográfica. Sin embargo, el recuento polínico sigue siendo el método más útil y eficaz como vía de información polínica, debido a su sencillez, rapidez y menor gasto de recursos (Zapata Jiménez, 2003).

Las sociedades científicas, con el fin de facilitar la interpretación de los recuentos polínicos a la población alérgica, establece valores umbral de reactividad para los pólenes más alérgicos. Estos umbrales se refieren a concentraciones de polen asociadas a la posibilidad de provocar síntomas en un porcentaje bajo, medio o alto de la población alérgica (Galán, et al., 2007). Dicha información es proporcionada de forma esquematizada por colores, análogamente a un semáforo; rojo para niveles polínicos altos, que supondrían un riesgo elevado de alergia; naranja para los moderados; y, verde para las concentraciones bajas, las cuales no supondrían riesgo a la población alérgica. Sin embargo, la variabilidad en la relación entre las concentraciones de polen y los síntomas de alergia ha puesto de relieve las dificultades para encontrar un umbral clínico universal. Por ejemplo, concentraciones de polen de *Olea* superiores a 400 granos de polen/m³ causaron síntomas leves de rinitis en la población alérgica de un área con una alta densidad de olivares (Florido, et al., 1999). Por el contrario, en áreas con menor densidad de cultivos, concentraciones de 162 granos de polen/m³ o incluso mucho menores fueron suficientes para inducir efectos alérgicos (Waisel, et al., 2004; Feo Brito, et al., 2011). Los valores umbral, además de depender de factores clínicos, dependen de otros factores que condicionan la presencia de polen en una determinada región, como son la abundancia de una especie en una zona concreta o las condiciones meteorológicas particulares de esa región. Por tanto, los valores umbral serán, en gran medida, característicos de cada zona geográfica (Cecchi, 2013).

1.2. *Olea*.

El género *Olea*, según el sistema de clasificación botánico, incluye a más de 30 especies, la mayoría de ellas, arbustos y árboles (Zohary, 1973). En España, solo está presente una de sus especies el olivo (*Olea europaea*) (López González, 2006).

El cultivo del olivo juega un importante papel socioeconómico y cultural, representando una fuente importante de ingresos (Loumou y Giourga, 2003). La gran extensión de superficie dedicada al cultivo del olivo en la cuenca del Mediterráneo representa el 95% del cultivo mundial (Figura 3). La región de Andalucía concentra el 15 % de los olivares a nivel mundial y el 60% de todo el cultivo español, que se concentra principalmente en las provincias de Jaén y Córdoba (International Olive Council, 2017). Así, Andalucía produce el 80 % del aceite de oliva español (Barranco y Rallo, 2000).

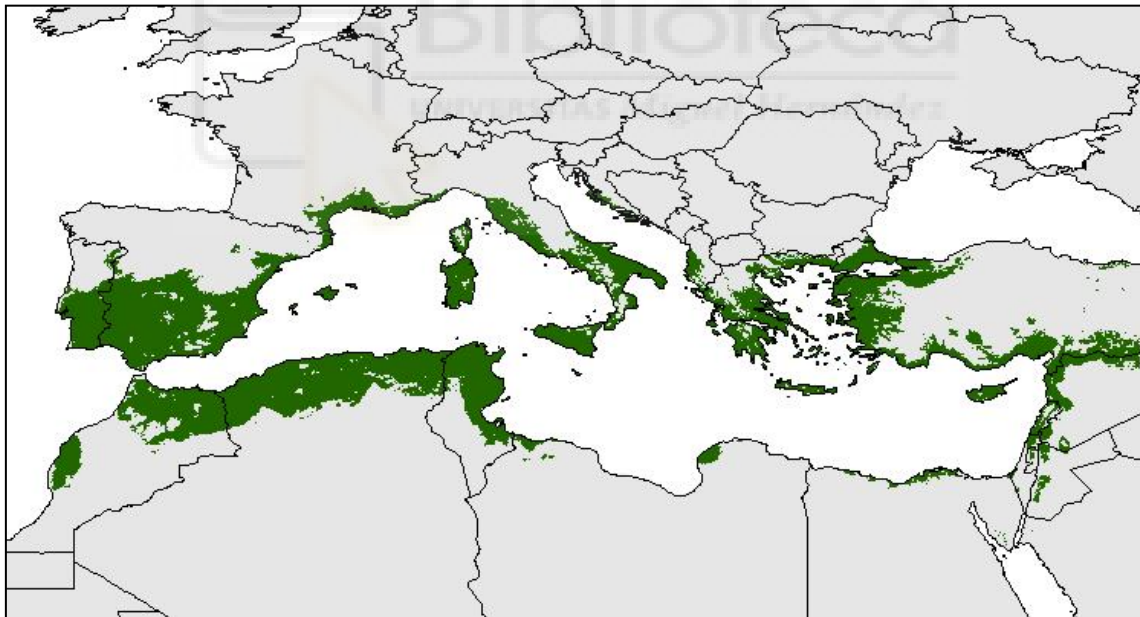


Figura 3. Distribución del cultivo del olivo en la cuenca del Mediterráneo (IOC, 2017).

La alta densidad de superficie de olivares en la cuenca del Mediterráneo convierte al polen de *Olea* en una de las principales causas de las enfermedades alérgicas respiratorias (Gioulekas, et al., 2004; De Linares, et al., 2007; Cebrino, et al., 2017). Es la segunda

causa de polinosis en España, y la primera causa en las regiones más al sur (Florido, et al., 1999; Feo Brito, et al., 2011). Como consecuencia, el polen de *Olea* es el más abundante en la zona del Mediterráneo, debido a las grandes cantidades de polen ($\sim 9,4 \times 10^4$ granos de polen por antera) liberadas a la atmósfera durante su temporada de polinización (Ruiz-Valenzuela y Aguilera, 2018; Martínez-Bracero, et al., 2019).

El olivo es una especie vecera en la que se alternan años de elevada y años de escasa producción, como resultado de un ciclo reproductor bienal. En el primer año se forman las yemas, cuyo destino vegetativo (de crecimiento) o reproductor queda determinado por la cosecha de ese mismo año, principal factor responsable de variación interanual de la floración (Stutte y Martin, 1986). Las yemas reproductoras darán lugar a las inflorescencias en el segundo año, tras la acumulación de horas de frío durante el invierno. Las temperaturas óptimas están comprendidas entre 2,5-15 °C, con un máximo efecto a 12,5 °C (Rallo, et al., 1994), ya que a temperaturas superiores dejan de acumular frío e incluso pierden parte del frío acumulado y si el frío acumulado no es suficiente la floración podría no darse (De Melo-Abreu, et al., 2004). En este sentido, el calentamiento global y el previsible cambio climático afectan, en gran medida, en el proceso reproductivo del olivo (Rallo y Cuevas, 2017).

Durante la floración tienen lugar la polinización, la fecundación y el cuajado de frutos. La polinización es la transferencia de polen desde la antera de la flor al estigma de otra flor, que en el caso del olivo lo realiza el viento (polinización anemófila). El polen de *Olea* es de pequeño tamaño ($< 20 \mu\text{m}$) lo que le permite dispersarse por la atmósfera con mucha facilidad, pudiendo permanecer incluso durante varias semanas seguidas en el aire (Tormo-Molina, et al., 1996; Galán, et al., 2008). La emisión de polen a la atmósfera tiene lugar tras su madurez, mediante la apertura de las anteras o dehiscencia de las flores (Strassburger, 1994). Este proceso precisa de temperaturas medias diarias superiores a 18 °C, alcanzando su máxima eflorescencia de la flor en las horas centrales del día (Richard, 1985). Por otro lado, una elevada humedad relativa del aire (Keijzer, et al., 1996) o la presencia de precipitaciones (Pérez, et al., 2009; Recio, et al., 2010), por acción mecánica, no permiten o dificultan la apertura de las anteras inhibiendo la descarga de polen al exterior.

La mayor parte del polen de *Olea* emitido a la atmósfera queda depositado cerca de la fuente emisora (Griggs, et al., 1975), mientras que el resto puede ser transportado por el viento a otros lugares más alejados (Bullock y Clarke, 2000; Hernández-Ceballos, et al., 2011; Koracin, et al., 2011; Rolph, et al., 2014). Estudios recientes del transporte de polen a media y larga distancia, tratan sobre fenómenos como la expansión de cultivos a nuevas áreas (Garrido, et al., 2021), la renovación genética de especies en peligro de extinción (López-Orozco, et al., 2020) o el desarrollo de estrategias de biocontención y mitigación del flujo transgénico entre cultivos (Zhang, et al., 2021). Existen diferentes modelos meteorológicos que permiten estudiar el transporte como, por ejemplo, SILAM (System for Integrated modeLling of Atmospheric coMposition), FLEXPART (Flexible Particle Dispersion model) o HYSPLIT (Hybrid Single Particle Lagrangian Integrated Trajectory Model).

El modelo HYSPLIT permite simular el movimiento de las masas de aire, desde un punto (forward) o hasta un punto determinado (back), durante un intervalo de tiempo determinado (Draxler y Rolph, 2015). Además, el modelo mediante el análisis de clúster permite identificar las principales fuentes de origen. Este modelo ha sido el más utilizado en el transporte de pólenes a corta y media distancia. Así, a modo de ejemplo, en Izquierdo et al. (2011) observan que eventos esporádicos de transporte de polen desde el sur de la Península Ibérica y el norte de África, que representan el 89-97 % de los recuentos anuales de *Olea*, pueden ser la causa de los episodios de alergia respiratoria en Tenerife. Por otro lado, en la ciudad de Córdoba se determina la influencia del polen transportado desde otras regiones de la provincia con gran densidad de olivares y en distintos periodos dentro de la temporada de polinización, observándose transporte a corta distancia a principios de mayo desde el suroeste, a mediados de mayo desde el sur y, desde el este, a finales de mayo/principios de junio (Hernández-Ceballos et al., 2014).

2. Objetivos

El objetivo general de la presente tesis es de realizar el primer estudio aerobiológico completo en la ciudad de Alicante.

Con el fin de alcanzar dicho objetivo, se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Realizar un estudio aerobiológico del polen de *Olea* en la ciudad de Alicante, mediante el análisis de las concentraciones diarias y bihorarias de polen registradas durante 2010-2015 y su relación con los parámetros meteorológicos locales.
- Identificar y cuantificar el transporte de polen de *Olea* desde otras regiones, definiendo un nuevo parámetro, índice polínico externo (**EPI**, *External Pollen Index*).
- Determinar los niveles de exposición al polen de *Olea* en la ciudad de Alicante mediante un nuevo método basado en percentiles estadísticos y análisis de regresión lineal.
- Estimar el riesgo de alergia al polen de *Olea* en la ciudad de Alicante utilizando los niveles de riesgo de la REA y los niveles de exposición determinados para Alicante.

3. Materiales y métodos

3.1. Área de estudio y potenciales regiones fuente de polen de *Olea*

La toma de muestra se realizó en la zona norte de la ciudad de Alicante (38°21'48''N; 0°29'21''W; 40 msnm). La ciudad, situada en la costa mediterránea al sur de la Comunidad Valenciana, cuenta con una población de aproximadamente 330.000 habitantes. Según la clasificación climática de Köppen, su clima es semiárido cálido (Bsh), con inviernos suaves y veranos largos y secos. Generalmente, el mes más frío es enero, con una temperatura media de 12 °C, mientras que agosto registra las temperaturas más altas (26 °C). Durante la primavera, cuando se da la estación de polinización del olivo la temperatura media es ~19 °C. Las precipitaciones anuales suelen ser bajas (<300 l/m²), concentrándose principalmente en los meses de primavera y otoño. La ciudad registra una humedad media anual del 66 %, variando muy poco a lo largo del año debido a su localización costera. El régimen de vientos dominante es el de brisas marinas del sureste durante los meses más cálidos y vientos procedentes del noroeste en los meses fríos.

La figura 4a muestra el porcentaje de superficie cultivada de olivo por comunidades autónomas en España.

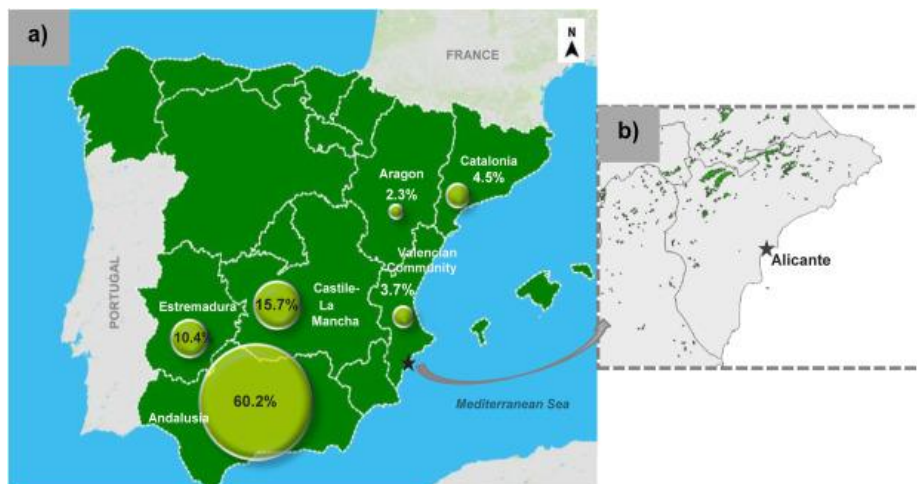


Figura 4. a) Localización del punto de muestreo y porcentaje de superficies cultivadas de olivo en España (solo se muestran aquellas regiones donde la superficie cultivada representa >2% de la superficie total cultivada de olivo en España) (MAPA, 2013). b) Superficie cultivada de olivo en la provincia de Alicante obtenida de la base de datos CORINE Land Cover (CLC, 2012).

Se asume que el porcentaje de área agrícola dentro de una región está relacionado con las emisiones relativas de polen de *Olea* en dicha región. En base a ello, Andalucía es, sin duda, la región que más polen de *Olea* emite a la atmósfera, especialmente en las provincias de Jaén y Córdoba, seguidas por las regiones de Castilla La Mancha y Extremadura. Mientras que, la Comunidad Valenciana sólo representa el 3,7 %, del cual un tercio aproximadamente correspondería a la provincia de Alicante. El cultivo de olivo en la provincia de Alicante se concentra principalmente en tercio norte de la misma (Figura 4b).

3.2. Datos polínicos y meteorológicos

Las concentraciones diarias y bihorarias de polen de *Olea*, en Alicante, durante el período de estudio, se obtuvieron de la estación polínica que la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) tiene al norte de la ciudad. La estación cuenta con un captador tipo Hirst (Burkard Manufacturing Co. Rickmansworth, Hertfordshire, Reino Unido) con un caudal de 10 l/min, situado en la azotea del Centro de Especialidades del Hospital General Universitario de Alicante (HGUA), a una altura de aproximadamente 20 metros sobre el nivel del suelo (Figura 5).

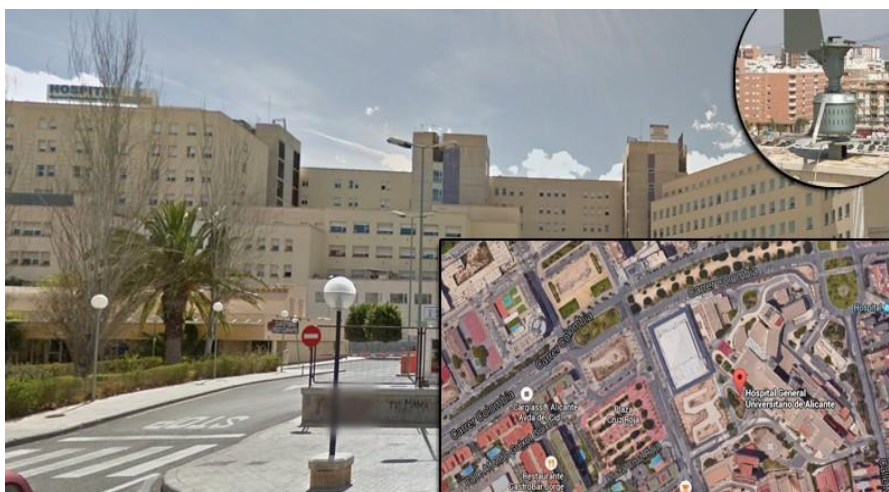


Figura 5. Localización del captador tipo Hirst (Burkard) en el HGUA.
Imagen disponible en <http://www.avaic.es>.

La captación y análisis del polen fue realizado por el personal del departamento de alergia del HGUA en colaboración con la Asociación Valenciana de Alergia e Inmunología Clínica (AVAIC), con el apoyo de Laboratorios Leti, siguiendo el protocolo estándar elaborado por la Red Española de Aerobiología (REA) y las recomendaciones mínimas de la Red Europea de Aeroalergenos (EAN).

Los captadores recogen muestras en continuo durante 7 días y, posteriormente estas son analizadas al microscopio óptico, realizándose un recuento e identificación individual de los distintos tipos polínicos según su morfología. Se entiende por tipo polínico el conjunto de caracteres morfológicos que presentan los granos de polen y que son una combinación única, que los hace distinguibles e identificables al microscopio electrónico en cuanto a su morfología polínica, pudiendo ser una agrupación de familias (Chenopodiaceae/Amaranthaceae) o géneros similares (*Olea*) (Figura 6). A partir del recuento polínico, es decir, número de granos de polen contabilizados y su multiplicación por un factor el cual tiene en cuenta el volumen de succión de aire muestreado y la superficie del campo del microscopio utilizado, se obtienen las concentraciones polínicas expresadas en granos de polen por metro cúbico de aire (polen/m³).



Figura 6. Descripción morfológica de los granos de polen al microscopio electrónico para su agrupación en familias (Chenopodiaceae/Amaranthaceae) (imagen izquierda) o géneros similares (*Olea*) (imagen derecha).

A partir de las concentraciones polínicas diarias de *Olea* se determinaron los parámetros polínicos que caracterizan el periodo de polinización:

- Período principal de polinización (**MPS**, *Main Pollen Season*): período de tiempo en el que se recoge el 95% de polen de *Olea*, descartando las dos colas de la distribución anual (Andersen, 1991).
- Inicio del período principal de polinización (**SPS**, *Start of Pollen Season*): fecha en la que se registra el 2,5% de la carga total de polen del año.
- Final del período principal de polinización (**EPS**, *End of Pollen Season*): fecha en la que se registra el 97,5% de la carga total de polen del año
- Duración del período principal de polinización (**LPS**, *Length of Pollen Season*): número de días entre el comienzo y el final de la MPS.
- Concentración polínica anual (**API_n**, *Annual Pollen Integral*): suma de las concentraciones polínicas diarias registradas durante el año.
- Concentración pico (**PC**, *Peak Concentration*): concentración máxima diaria de polen de *Olea* registrada durante el año.
- Fecha de la concentración pico (**PD**, *Peak Date*): fecha en la que se registra la concentración pico.

Los datos meteorológicos horarios se obtuvieron de la estación de Rabasa en Alicante, perteneciente a la Red de Vigilancia y Control de la Calidad del Aire (RVCCA) de la Generalitat Valenciana, situada a ~2 km al noroeste del punto de muestreo. Las variables consideradas para este estudio fueron: temperaturas media, máxima y mínima; radiación solar media; la lluvia acumulada; la humedad relativa media y la velocidad media del viento.

3.3. Análisis de datos

Para caracterizar la aerobiología del polen de *Olea* en la ciudad de Alicante, se realizó un análisis descriptivo determinando la variación de los parámetros polínicos a lo largo del período de estudio y, el patrón diario de *Olea* a partir de las concentraciones polínicas bihorarias. La tendencia de los parámetros polínicos a lo largo del estudio, se analizó empleando el test estadístico de Mann-Kendall. Mediante la prueba no paramétrica de correlación de Spearman se estudió la relación entre las variables meteorológicas y las concentraciones polínicas registradas durante toda la MPS y durante el periodo pre-pico, (el cual comprende el intervalo temporal que va desde la SPS hasta el PD). Este periodo también es utilizado para analizar la relación entre los parámetros meteorológicos y las concentraciones ya que es más fiable a la hora de explicar fenómenos como la emisión de polen (Ribeiro, et al., 2006; Pérez-Badia, et al., 2011).

El origen de las masas de aire que llegaron a Alicante, durante la estación de polinización de cada año, se determinó mediante el modelo HYSPLIT (Hybrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectory model) (Draxler y Rolph, 2015). Para ello:

a) Se simularon retrotrayectorias a intervalos de 2 horas entre trayectorias consecutivas. Además, las retrotrayectorias se simularon durante un periodo de 36 h y a una altura de 500 m a.g.l. Estas dos condiciones de simulación son debidas a que por un lado sabemos que el tiempo que tardan las masas de aire en recorrer la distancia existente entre las distintas regiones fuentes de polen y el punto de muestreo es inferior a 36 horas y, por otro lado, nos aseguramos que la llegada de la masa de aire que transporta el polen tenga lugar por debajo de la capa de mezcla (ABL). La información meteorológica utilizada fue la base de datos del Sistema Global de Asimilación de Datos, del Centro Nacional de Predicción Ambiental (NCEP), incorporada en el modelo.

b) Se aplicó el análisis de clúster para clasificar las retrotrayectorias simuladas para cada año individualmente e identificar los principales orígenes de las masas de aire y, a partir de ellos derivar el posible aporte del polen de *Olea* transportado desde otras regiones. La elección del número final de clústeres se determinó considerando cambios de más del 40% en la varianza espacial total (TSV), calculada a medida que los agrupamientos se emparejaban de forma iterativa.

Para analizar la influencia de polen de *Olea* transportado desde una región sobre los niveles polínicos anuales de *Olea* registrados en Alicante, se realizó inicialmente un análisis de regresión lineal entre la concentración polínica anual (API_n) y el índice polínico de cada clúster (**CPI**, *Cluster Pollen Index*), calculado como la suma de las concentraciones polínicas bihorarias de las retrotrayectorias agrupadas en cada dirección. Y, posteriormente, se cuantificó dicha influencia mediante un nuevo parámetro que se denominó índice polínico externo (**EPI**, *External Pollen Index*). Este nuevo índice se ideó a partir de la suma de las contribuciones de polen transportadas desde otras regiones que mejor correlacionaban con API_n.

El riesgo de alergia al polen de *Olea* se determinó en función del número de días en los que las concentraciones de polen superaron los valores umbral establecidos por la Red Española de Aerobiología (REA) para las concentraciones polínicas asociadas a la posibilidad de causar síntomas en la población alérgica (Galán, et al., 2007). Concretamente, para taxones arbóreos, como *Olea*, se considera que la posibilidad de causar síntomas sería: baja, para concentraciones diarias <50 polen/m³; moderada, para niveles polínicos entre 50 y 200 polen/m³ y, alto, para concentraciones diarias superiores a 200 polen/m³.

Sin embargo, la variabilidad en la relación ha puesto de relieve las dificultades para encontrar un umbral clínico universal. La variabilidad de resultados encontrados entre los recuentos polínicos y los síntomas de alergia y, en consecuencia, un consenso para los umbrales de riesgo, puede deberse a diversos factores. Entre los clínicos se encontraría, el amplio rango de gravedad de la polinosis de paciente a paciente, la sensibilización a varios pólenes que florecen en la misma estación y, la variabilidad del umbral de respuesta a lo largo de la estación (efecto priming). Por otro lado, a nivel aerobiológico, se sabe que los valores umbral dependen, en gran medida, de la cantidad de polen a la que suele estar expuesta la población alérgica que, a su vez, depende de la flora local y, por tanto, de la zona geográfica (Florido, et al., 1999; Feo Brito, et al., 2011; Annesi-Maesano, et al., 2012).

La población alérgica, a través de las diversas entidades regionales, puede conocer los niveles polínicos en el aire de los principales taxones alérgicos que, sin duda, son útiles

para mejorar su salud y su calidad de vida. Sin embargo, no resulta sorprendente que la población alérgica no sepa interpretar dicha información, o bien, su interpretación se basa en valores umbral genéricos. Por tanto, cada vez son más las entidades que a partir de las concentraciones polínicas históricas registradas en un área calculan los valores umbral asociados a un riesgo de exposición, ante la dificultad de obtener la información clínica detallada para calcular sus umbrales de riesgo de alergia.

En este trabajo, se diseñó un método para determinar los niveles de exposición al polen de *Olea* para Alicante. El método consiste en:

- Calcular las concentraciones promedio diarias por fecha (dd/mm), considerando los días incluidos en la estación principal de polinización de todo el periodo, con el fin de minimizar la influencia de los valores de concentraciones extremos y, en general, de la variabilidad interanual en los niveles polínicos.
- Agrupar las concentraciones polínicas promedio diarias por percentiles, a intervalos de 2,5 (desde P2,5 a P97,5) y, además, se incluyó P99. Cada percentil indica el porcentaje de datos que son igual o menor que un determinado valor de concentración polínica.
- Representar gráficamente el valor de concentración polínica determinado para cada percentil.
- Determinar los umbrales de exposición mediante un análisis de regresión lineal, ya que existen estudios que confirman la relación lineal entre las concentraciones de polen y los síntomas desarrollados por la población alérgica (DellaValle, et al., 2012; Kiotseridis, et al., 2013). Los valores umbral se asocian a los cambios de pendientes entre dos líneas consecutivas.
- Definir los niveles de exposición al polen de *Olea*, de bajo a muy alto, en función de los valores umbral de exposición identificados.

Los niveles de exposición calculados a partir de esta metodología se utilizaron, como una alternativa a los umbrales clínicos de la REA, para estimar el riesgo de alergia al polen de *Olea* en Alicante.

4. Resultados y discusión

El polen de *Olea* es el taxón más representativo en el espectro polínico de Alicante, alcanzándose un integral anual de polen promedio de 2671 polen/m³, con valores máximos y mínimos de 3598 y 1794 polen/m³ respectivamente. La estación de polinización principal mostró una duración media de 67 ± 20 días, con comienzos más tempranos en abril y finalizaciones más tardías en julio, registrándose el 62% del polen de todo el periodo de estudio, entre mayo y junio. Las concentraciones pico registradas mostraron valores dispares, con máximos de 741 polen/m³ y mínimos de 170 polen/m³. Generalmente, estas concentraciones se registraron en mayo, a excepción del año 2013 que su registro fue en junio. Además, durante la estación de polinización se registraron días consecutivos con concentraciones elevadas (incluida la PC), agrupados en dos o tres períodos al año, los cuales representaron el 25-68% del polen anual. No se observaron tendencias significativas en ninguno de los parámetros polínicos con el test de Mann-Kendall. Las concentraciones polínicas de *Olea* en Alicante, en general, fueron muy inferiores a las registradas en áreas con alta densidad de olivos y, en consecuencia, una mayor emisión de polen a la atmósfera. Por tanto, los días consecutivos con concentraciones inusualmente elevadas podrían ser una de las razones del posible aumento de la población sensibilizada al polen de *Olea* en la región.

Las concentraciones polínicas bihorarias de *Olea* mostraron un patrón diario que no presenta concentraciones máximas durante las horas centrales del día (coincidiendo con la máxima eflorescencia de la flor), lo que sugiere que la presencia de este polen se debe a fuentes no locales. En Alicante, las concentraciones máximas se registraron en dos periodos, antes del amanecer y durante la tarde, con valores máximos de 04:00 a 06:00 UTC y alrededor de 16:00 UTC. Las concentraciones durante la tarde fueron ligeramente inferiores debido, posiblemente, al efecto lavado de la lluvia.

En Alicante, las variables meteorológicas registradas durante la estación principal de polinización de *Olea* no mostraron una variabilidad interanual destacable. Las correlaciones entre los parámetros meteorológicos y las concentraciones polínicas de *Olea* mostraron coeficientes de Spearman bajos posiblemente debido al enmascaramiento de otros factores, como el transporte de polen a larga distancia.

El estudio de la procedencia de las masas de aire, que llegaron a Alicante durante la estación polínica de *Olea*, mostró cinco direcciones principales: Suroeste (SW), Noroeste (NW), Norte (N), Este (E) y Recirculación Regional (RR). Las masas de aire que transportaron cantidades significativas de polen fueron las de origen SW y NW, debido a su paso por regiones con las mayores extensiones de cultivo (Figura 4a). Para cada año de estudio, las retrotrayectorias se agruparon entre 3 o 4 direcciones. El porcentaje de retrotrayectorias por clúster no presentó una relación clara con las concentraciones polínicas anuales registradas debido, posiblemente, a que el transporte de polen desde otras regiones depende de la emisión de polen a lo largo del día, y no sólo del origen. Y, aunque la mayor contribución a las concentraciones polínicas anuales fue de la dirección SW (39%), el análisis de regresión lineal no dio claros resultados para ninguna de las contribuciones individuales de cada clúster (CPI). Sin embargo, sí fue elevada y estadísticamente significativa para la contribución polínica global de procedencia oeste, es decir, la suma de las concentraciones polínicas de origen SW y NW. Esta contribución global constituye el denominado índice polínico externo (EPI, *External Pollen Index*), el cual ha mostrado ser un buen parámetro predictivo de la concentración polínica anual registrada en Alicante. Así, el EPI representa un valor medio del 57% de los niveles polínicos anuales, lo que pone de manifiesto la alta influencia de los aportes externos a la zona de estudio. En ausencia de estos aportes foráneos el nivel alcanzado se sitúa alrededor de 1300 polen/m³. Dicho valor representa la concentración polínica anual de origen local, la cual depende de las características fenológicas del olivo y meteorológicas del área de estudio.

Los niveles de exposición al polen de *Olea* en Alicante, determinados por el cambio de pendiente en los percentiles P37,5, P75 y P95, asociados a los valores umbral de concentración polínica, definen los niveles de exposición como: Bajo (<20 polen/m³), Moderado (20-50 polen/m³), Alto (51-100 polen/m³) y Muy Alto (>100 polen/m³). Estos valores fueron significativamente menores que los umbrales de riesgo indicados por la REA para taxones arbóreos, pero similares a los propuestos en otras regiones con baja densidad de olivares.

Las concentraciones polínicas diarias de *Olea* excedieron el umbral más alto establecido por la REA en solo 14 días de los 6 años de estudio presentando un riesgo bajo en más de

75% de los días, a pesar de ser una de las principales causas de alergia en Alicante. Considerando los niveles de exposición estimados para Alicante, la mayoría de los días también fueron de exposición bajo. Sin embargo, el estudio estadístico entre el número de días en cada nivel de exposición y los distintos parámetros polínicos reveló que: a) un mayor número de días con concentraciones polínicas >50 polen/m³ (nivel de exposición alto y muy alto) se asoció con periodos de polinización más largos y el registro de concentraciones pico más tardías, y b) un mayor número de días con concentraciones polínicas >100 polen/m³ (nivel de exposición muy alto) se asoció con periodos de polinización más cortos y concentraciones polínicas anuales más altas. Los días que registraron concentraciones por encima del umbral alto, se distribuyeron de manera desigual a lo largo de la estación de polinización principal debido a los aportes polínicos desde SW y NW. Estas condiciones de concentraciones altas de polen durante períodos más prolongados de tiempo o concentraciones muy altas durante cortos períodos de tiempo, serían aquellas que darían lugar a un mayor riesgo para la población alérgica.



5. Conclusiones y líneas de investigación futuras

El transporte de polen a medio alcance, procedente de las regiones occidentales peninsulares, tiene un impacto significativo en las concentraciones anuales de polen de *Olea* registradas en Alicante. Este aporte foráneo enmascara la influencia de los parámetros meteorológicos locales sobre las concentraciones de polen. La contribución no local a los niveles de polen se cuantificó mediante un nuevo parámetro denominado índice de polen externo (EPI), que representa la suma de las concentraciones de polen de *Olea* transportado por masas de aire provenientes de los sectores SW y NW. Los aportes polínicos, en general, desde el oeste, además, de aumentar la concentración polínica anual, influyen sobre la duración de la estación de polinización, la concentración pico alcanzada y la fecha de su registro, y son la causa más probable de los niveles de exposición altos y muy altos.

Los valores umbral de exposición para Alicante se determinaron utilizando un nuevo método basado en percentiles estadísticos, que podría aplicarse fácilmente a otros tipos de polen y a cualquier área que disponga de información histórica sobre concentraciones polínicas. Los niveles de exposición al polen de *Olea* en Alicante se clasificaron como Bajo (<20 polen/m³), Moderado (20-50 polen/m³), Alto (51-100 polen/m³) y Muy alto (> 100 polen/m³).

En general, este trabajo indica que los niveles polínicos de *Olea* registrados en un área dependen en gran medida de las concentraciones registradas en el centro y sur de la Península Ibérica, donde se concentra una gran densidad de olivos. Hecho que debería tenerse en cuenta en los estudios aerobiológicos de este taxón, sobre todo en aquellas regiones donde el olivo no sea una especie muy común. Además, las investigaciones futuras deberían encaminarse hacia el uso de nuevas metodologías para predecir los aportes externos de polen, asociados con concentraciones inusualmente altas y que suponen un mayor riesgo de exposición para la población alérgica. Disponer de esa información de forma anticipada, sería útil para alertar a la población alérgica e incluso ajustar los tratamientos farmacológicos para, en general, mejorar su calidad de vida.

6. Bibliografía

Andersen, T.B., 1991. A model to predict the beginning of the pollen season. *Grana*, 30, 269-275.

Annesi-Maesano, I., Rouve, S., Desqueyroux, H., Jankovski, R., Klossek, J.M., Thibaudon, M., et al., 2012. Grass pollen counts, air pollution levels and allergic rhinitis severity. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 158, 397–404.

Barranco, D., Rallo, L., 2000. Olive cultivars in Spain. *Horttechnology*, 10(1), 107-110.

Bullock, J.M., Clarke, R.T., 2000. Long distance seed dispersal by wind: measuring and modelling the tail of the curve. *Oecologia*, 124, 506–521.

Cebrino, J., Portero de la Cruz, S., Barasona, M.J., Alcázar, P., Moreno, C., Domínguez-Vilches, E., et al., 2017. Airborne pollen in Córdoba City (Spain) and its implications for pollen allergy. *Aerobiologia*, 33, 281–291.

Cecchi, L., 2013. From pollen count to pollen potency: the molecular era of aerobiology. *Eur. Respir. J.*, 42, 898–900.

CLC, 2012. Corine land cover. Website: <https://land.copernicus.eu/pan-european/corine-land-cover>. (Consultado el 3 de mayo 2021).

D'Amato, G., Cecchi, L., Bonini, S., Nunes, C., Annesi-Maesano, I., Behrendt, H., et al., 2007. Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy*, 62, 976-990.

DellaValle, C.T., Triche, E.W., Leaderer, B.P., Bell, M.L., 2012. Effects of ambient pollen concentrations on frequency and severity of asthma symptoms among asthmatic children. *Epidemiology*, 23, 55–63.

De Linares, C., Nieto-Lugilde, D., Alba, F., Díaz de la Guardia, C., Galán, C., Trigo, M.M., 2007. Detection of airborne allergen (Ole e 1) in relation to *Olea europaea* pollen in Spain. *Clin. Exp. Allergy*, 37, 125–132.

De Melo-Abreu, J.P., Barranco, D., Cordeiro, A.M., Tous, J., Rogado, B.M., Villalobos, F., 2004. Modelling olive flowering date using chilling for dormancy release and thermal time. *Agric. For. Meteorol.*, 125, 117-127.

Draxler, R.R., Rolph, G.D., 2015. HYSPLIT (Hybrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectory). Model access via NOAA ARL READY Website: https://www.ready.noaa.gov/HYSPLIT_traj.php. (Consultado el 3 de mayo 2021).

Emberlin, J., 1995. Interaction between air pollutants and aeroallergens. In: Wardlaw, A., editor. *Air pollution and allergic disease*. *Clin. Exp. Allergy*, 25, 33-39.

EPA., 2004. Risk Assessment Guidance for Superfund. Volume I-Human Health Evaluation Manual. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC, EEUU. Website: www.epa.gov/superfund/index.htm. (Consultado el 3 de mayo 2021).

Feo Brito, F., Mur Gimeno, P., Carnés, J., Martín, R., Fernández-Caldas, E., Lara, P., et al., 2011. *Olea europaea* pollen counts and aeroallergen levels predict clinical symptoms in patients allergic to olive pollen. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 106, 146-52.

Fernández, J., Flores, E., Varea, M., Soriano, V., Gonzalez, P., 2015. Evolution of the incidence of pollen grains and sensitivity to pollen in the city of Elche (Spain). *Asian Pac. J. Allergy Immunol.*, 33, 196-202.

Florido, J.F., González, P., Sáenz de San Pedro, B., Quiralte, J., Arias de Saavedra, J.M., Peralta, V., et al., 1999. High levels of *Olea europaea* pollen and relation with clinical findings. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 119, 133-7.

Galán, C., Cariñanos, P., Alcázar, P., Domínguez, E., 2007. Spanish Aerobiology Network (REA): Management and quality manual. ISBN 978-84-690-6353-8.

Galán, C., García-Mozo, H., Vázquez, L., Ruiz, L., Díaz de la Guardia, C., Domínguez-Vilches, E., 2008. Modeling olive crop yield in Andalusia, Spain. *Agron. J.*, 100, 98–104.

Garrido, A., Fernández-González, M., Vázquez-Ruiz, R.A., Javier Rodríguez-Rajo, F., Aira, M.J., 2021. Reproductive biology of olive trees (Arbequina cultivar) at the northern limit of their distribution areas. *Forests*, 12, 204.

Gioulekas, D., Papakosta, D., Damialis, A., Spiexsma, F., Giouleka, P., Patakas, D., 2004. Allergenic pollen records (15 years) and sensitization in patients with respiratory allergy in Thessaloniki, Greece. *Allergy*, 59, 174-184.

Griggs, W.H., Hartman, H.T., Bradley, M.V., Iwakiri, B.T., Whisler, J.E., 1975. Olive pollination in California. *Calif. Agric. Exp. Stn.*, 869.

Hernández-Ceballos, M., García-Mozo, H., Adame, J., Domínguez-Vilches, E., De la Morena, B., Bolívar, J., et al., 2011. Synoptic and meteorological characterisation of olive pollen transport in Córdoba province (south-western Spain). *Int. J. Biometeorol.*, 55, 17–34.

Hernández-Ceballos, M.A., Soares, J., García-Mozo, H., et al., 2014. Analysis of atmospheric dispersion of olive pollen in southern Spain using SILAM and HYSPLIT models. *Aerobiologia*, 30, 239-255.

International Olive Council, 2017. The olive tree. Website: https://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/76-the-olive-tree?lang=en_US. (Consultado el 3 de mayo 2021).

Izquierdo, R., Belmonte, J., Ávila, A., et al., 2011. Source areas and long-range transport of pollen from continental land to Tenerife (Canary Islands). *Int. J. Biometeorol.*, 55, 67-85.

Keijzer, C.J., Leferink-Ten Klooster, H.B., Reinders, M.C., 1996. The Mechanics of the Grass Flower: Anther Dehiscence and Pollen Shedding in Maize. *Ann. Bot.*, 78, 15-21.

Kiotseridis, H., Cilio, C.M., Bjermer, L., Tunsäter, A., Jacobsson, H., Dahl, Å., 2013. Grass pollen allergy in children and adolescents-symptoms, health related quality of life and the value of pollen prognosis. *Clin. Transl. Allergy*, 3, 19.

Konishi, S., Ng, C.F., Stickley, A., Nishihata, S., Shinsugi, C., Ueda, K., et al., 2014. Particulate matter modifies the association between airborne pollen and daily medical consultations for pollinosis in Tokyo. *Sci. Total Environ.*, 499, 125-32.

Koracin, D., Vellore, R., Lowenthal, D.H., Watson, J.G., Koracin, J., McCord, T., et al., 2011. Regional source identification using Lagrangian stochastic particle dispersion and HYSPLIT backward-trajectory models. *J. Air Waste Manag. Assoc.*, 61, 660-72.

López González., G.A., 2006a. Los árboles y arbustos de la Península Ibérica e Islas Baleares. Tomo I (2a. ed.), Mundi-Prensa, Madrid.

López-Orozco, R., Hernández-Ceballos, M.A., Galán, C., García-Mozo, H., 2020. Atmospheric pathways and distance range analysis of *Castanea* pollen transport in Southern Spain. *Forests*, 11, 1092.

Loumou, A., Giourga, C., 2003. Olive groves: “The life and identity of the Mediterranean”. *Agric. Human Values*, 20, 87–95.

Martínez-Bracero, M., Alcázar, P., Velasco-Jimenez, M.-J., Galán, C., 2019. Effect of the Mediterranean crops in the airborne pollen spectrum. *Aerobiologia*, 35, 647–657.

Moreno-Grau, S., Elvira-Rendueles, B., Moreno, J., García-Sánchez, A., Vergara, N., Asturias, J.A., et al., 2006. Correlation between *Olea europaea* and *Parietaria judaica* pollen counts and quantification of their major allergens Ole e 1 and Par j 1-Par j 2. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 96, 858-64.

Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación (MAPA), 2013. Aceite de oliva, la excelencia del oro líquido. Website:https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_DYC/DYC_2013_130_38_47.pdf. (Consultado el 3 de mayo 2021).

Namork, E., Johansen, B.V., Lovik, M., 2006. Detection of allergens adsorbed to ambient air particles collected in four European cities. *Toxicol. Lett.*, 165, 71–78.

Negrini, A.C., Negrini, S., Giunta, V., Quaglini, S., Ciprandi, G., 2011. Thirty-year survey on airborne pollen concentrations in Genoa, Italy: relationship with sensitizations, meteorological data, and air pollution. *Am. J. Rhinol. Allergy*, 25, e232-41.

Ormstad, H., 2000. Suspended particulate matter in indoor air: adjuvants and allergen carriers. *Toxicology*, 152, 53–68.

Pérez, C.F., Gassmann, M.I., Covi, M., 2009. An evaluation of the airborne pollen–precipitation relationship with the superposed epoch method. *Aerobiologia*, 25, 313–320.

Pérez-Badia, R., Rapp, A., Vaquero, C., Fernández-González, F., 2011. Aerobiological study in east-central Iberian Peninsula: pollen diversity and dynamics for major taxa. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 18, 99-111.

Plaza, M.P., Alcázar, P., Galán, C., 2016. Correlation between airborne *Olea europaea* pollen concentrations and levels of the major allergen Ole e1 in Cordoba, Spain, 2012-2014. *Int. J. Biometeorol.*, 60, 1841-1847.

Rallo, L., Torreño, P., Vargas, J.A., Alvarado, J., 1994. Dormancy and alternate bearing in olive. *Acta Hortic.*, 356, 127-136.

Rallo, L., Cuevas, J., 2017. El cultivo del olivo. Fructificación y producción. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, 145-186.

Recio, M., Docampo, S., García-Sánchez, J., Trigo, M.M., Melgar, M., Cabezudo, B., 2010. Influence of temperature, rainfall and wind trends on grass pollination in Malaga (western Mediterranean coast). *Agric. For. Meteorol.*, 150, 931–940.

Reinmuth-Selzle, K., Kampf, C.J., Lucas, K., Lang-Yona, N., Fröhlich-Nowoisky, J., Shiraiwa, M., et al., 2017. Air pollution and climate change effects on allergies in the anthropocene: abundance, interaction, and modification of allergens and adjuvants. *Environ. Sci. Technol.*, 51, 4119-4141.

Ribeiro, H., Santos, L., Abreu, I., Cunha, M., 2006. Influence of meteorological parameters on *Olea* flowering date and airborne pollen concentration in four regions of Portugal. *Grana*, 45, 115-121.

Richard, P., 1985. Contribution aeropalinologique à l'étude de l'action des facteurs climatiques sur la floraison de l'orme (*Ulmus campestris*) et de l'if (*Taxus baccata*). *Pollen et spores*, 27, 91-96.

Rolph, G.D., Ngan, F., Draxler, R.R., 2014. Modeling the fallout from stabilized nuclear clouds using the HYSPLIT atmospheric dispersion model. *J. Environ. Radioact.*, 136, 41-55.

Ruiz-Valenzuela, L., Aguilera, F., 2018. Trends in airborne pollen and pollen-season-related features of anemophilous species in Jaen (south Spain): a 23-year perspective. *Atmos. Environ.* 180, 234–243.

Sánchez-Mesa, J.A., Brandao, R., Lopes, L., Galán, C., 2005. Correlation between pollen counts and symptoms in two different areas of the Iberian Peninsula: Cordoba (Spain) and Evora (Portugal). *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 15, 112-6.

Solomon, W.R., 2002. Airborne pollen: a brief life. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 109, 895-900.

Strassburger, E., 1994. *Tratado de Botánica*. 8.^a edición. Omega, Barcelona.

Stutte, G., Martin, H.C., 1986. Effect of killing the seed on return bloom of olive. *Sci. Hortic.*, 29, 107-113.

Targonski, P.V., Persky, V.W., Ramekrishnan, V., 1995. Effects of environment molds in risk for death from asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 95, 955-6.

Tormo-Molina, R., Muñoz-Rodríguez, A., Silva-Palacios, I., Gallardo Lopez, F., 1996. Pollen production in anemophilous trees. *Grana*, 35, 38–46.

Waisel, Y., Mienis, Z., Kosman, E., Geller-Bernstein, C., 2004. The partial contribution of specific airborne pollen to pollen induced allergy. *Aerobiologia* 20, 197–208.

Zapata Jiménez, C., 2003. Interpretación de los recuentos de polen. *Alergol. Inmunol. Clin.*, 18, 50-56.

Zhang, C.-J., Kim, D.-S., Jiang, C., Mahoney, J. et al., 2021. Hourly pollen dispersal of *Camelina sativa* (L.) Crantz under different weather conditions and mitigation of wind-blown pollen dispersal using maize barrier. *Ind. Crop. Prod.*, 162, 113318.

Zohary, D., 1973. *Geobotanical foundations of the middle east*. Fisher, Swets and Zeitlinger. Stuttgart, Amsterdam, 739.

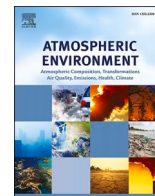
Zuberbier, T., Lötvall, J., Simoons, S., Subramanian, S.V., Church, M.K., 2014. Economic burden of inadequate management of allergic diseases in the European Union: a GA (2) LEN review. *Allergy*, 69, 1275–1279.



Anexo

Assessment of the external contribution to *Olea* pollen levels

in southeastern Spain



Assessment of the external contribution to *Olea* pollen levels in southeastern Spain

A. Viney^a, J.F. Nicolás^a, N. Galindo^a, J. Fernández^b, V. Soriano-Gomis^b, M. Varea^{a,*}

^a Atmospheric Pollution Laboratory (LCA), Department of Applied Physics, Miguel Hernández University, Avenida de la Universidad S/N, 03202, Elche, Spain

^b Allergy Section, Alicante General University Hospital, ISABIAL-UMH, Avenida Pintor Baeza 12, 03010, Alicante, Spain

HIGHLIGHTS

- *Olea* pollen from western regions contributed 57% to the annual concentration.
- *Olea* pollen exposure levels in Alicante were determined using a new simple method.
- The higher allergy risk for the population was due to western contributions.

ARTICLE INFO

Keywords:

Olea pollen
Cluster analysis
Backward trajectories
Mediterranean region
Exposure thresholds

ABSTRACT

The province of Alicante (southeastern Spain) has a low density of olive trees; however, a substantial increase in the number of patients with allergic sensitization to *Olea* has been observed in recent years. The present work seeks to identify and quantify the transport of *Olea* pollen from other source regions, defining a new parameter called External Pollen Index (EPI). The second objective of the study was to determine *Olea* pollen exposure levels in Alicante city using a new method based on statistical percentiles and linear regression analysis. For these purposes, a study of daily and 2-hour average concentrations of *Olea* pollen combined with cluster analysis of 2-hour back-trajectories was carried out during the pollination period of 2010–2015.

The annual levels of olive pollen recorded in Alicante showed a significant contribution from the Western Iberian Peninsula. Thus, the EPI is defined as the sum of the contributions of pollen transported by air masses from southwestern and northwestern Spain. The good linear correlation between the EPI and the APIn ($R^2 = 0.818$; p -value 0.013) suggests that the total contribution of pollen from western regions may be a good predictor of the annual concentration of *Olea* pollen registered in Alicante. It has been estimated that, in the absence of external contributions, the *Olea* pollen concentration at the study area would be around 1300 pollen grains·m⁻³. *Olea* pollen exposure levels determined in Alicante were: Low (<20 pollen grains·m⁻³), Moderate (20–50 pollen grains·m⁻³), High (51–100 pollen grains·m⁻³) and Very High (>100 pollen grains·m⁻³). High and very high exposure levels were associated with northwestern and southwestern contributions, respectively. Future research should consider external contributions (EPI) in prediction models in order to get a better estimation of pollen levels and, consequently, improve the information provided to the allergic population.

1. Introduction

Airborne pollen grains are widely known to be one of the most important allergy factors that affect human health. They cause numerous allergic diseases including allergic rhinitis, conjunctivitis and even asthma in sensitive individuals. An increase in allergy prevalence up to 40% has been observed in Europe due to several anthropogenic causes, such as excessive urbanization, increased air pollution, frequent

use of allergenic-pollen producing plants and an unequal distribution of the human population (D'Amato et al., 2007). Allergic diseases represent a global health problem that not only significantly reduce the quality of life of the allergic population, but also have a significant economic impact on society (Zuberbier et al., 2014).

Olea pollen is one of the main causes of seasonal respiratory allergy in the Mediterranean area (Negri and Arobba, 1992; Gioulekas et al., 2004; Cebrino et al., 2017). Olive trees play an important role in the

* Corresponding author. Laboratory of Atmospheric Pollution, Miguel Hernández University, Av. de la Universidad s/n, Edif. Alcudia, 03202, Elche, Spain.

E-mail address: montse.varea@umh.es (M. Varea).

<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2021.118481>

Received 18 March 2021; Received in revised form 30 April 2021; Accepted 10 May 2021

Available online 14 May 2021

1352-2310/© 2021 The Author(s). Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Mediterranean environment due to their high socio-economic and cultural value, representing a significant source of income in this area (Loumou and Giourga, 2003). Today 95% of the world's olive trees are cultivated in the Mediterranean basin, 15% of them in Andalusia, a region located in the south of the Iberian Peninsula where more than 60% of Spanish olive trees grow (International Olive Council, 2017). *Olea* pollen has become the most abundant type of pollen in the Mediterranean region due to the expansion of cultivated areas and to its anemophilous evolution, releasing large quantities of pollen during spring (Ruiz-Valenzuela and Aguilera, 2018; Martínez-Bracero et al., 2019). On the other hand, the western Mediterranean basin is characterized by specific atmospheric dynamics due to the complex interactions between climatic and topographic factors (Millán et al., 1997; Ulbrich et al., 2012), and is considered to be one of the areas where climate change is most likely to have a greater impact this century (Giorgi and Lionello, 2008). This can be observed in the unbalanced biological rhythms of the olive tree (Bonofiglio et al., 2009; Moriondo et al., 2013; Orlandi et al., 2014; Aguilera et al., 2014; Sorrel and Mathis, 2016). Due to the agricultural, environmental, medical and economic interests of the olive tree (*Olea europaea*), it has been the subject of numerous investigations based generally on aerobiological characteristics. Most recent studies deal with the development of prediction models for pollen concentrations using big data techniques (Rojo et al., 2019) and neural networks (Iglesias-Otero et al., 2015; González-Naharro et al., 2019; Fernández-Rodríguez, 2020; Muzalyova et al., 2021; Cordero et al., 2021). There are also works on the expansion of crops to new areas (Garrido et al., 2021), the genetic renewal of endangered species (Lopez-Orozco et al., 2020), and the development of strategies for biocontainment and mitigation of transgene flow between crops (Zhang et al., 2021), all of them based on the study of medium or long-range transport of pollen. The Hybrid Single Particle Lagrangian Integrated Trajectory (HYSPLIT) Model (Veriankaité et al., 2010; Fernández-Rodríguez et al., 2014; Monroy-Colín et al., 2020; Picornell et al., 2020), cluster analysis (Oteros et al., 2013; Makra et al., 2016; Alcázar et al., 2019; Pereira et al., 2020), and geostatistical models for mapping the spatial distribution of allergenic plants (Rojo and Perez-Badía, 2015; García-Mozo et al., 2016; Ciani et al., 2020; Maya-Manzano et al., 2021), are among the most used techniques.

A substantial increase in the number of patients with allergic sensitization to *Olea* pollen has been observed in Alicante, a region located in southeast Spain. Since a broad aerobiological study has not been carried

out so far, this increase has been presumably associated with the increase in peak concentrations of olive pollen (Fernández et al., 2015). Based on this finding, and considering that olive trees are sparse in the study area, peak concentrations could be linked to pollen transported from other regions (Fernández-Rodríguez et al., 2014). In this work a comprehensive aerobiological study in the city of Alicante during the 2010–2015 period has been performed. The main objectives are: to quantify the non-local contribution of *Olea* pollen using a new pollen parameter defined as the External Pollen Index (EPI), and to determine the *Olea* pollen exposure levels for Alicante city using a new simple method based on statistical percentiles.

2. Materials and methods

2.1. Study area and potential *Olea* pollen source regions

The sampling site was located in the northern area of Alicante city (38°21'48"N; 0°29'21"W; 40 m a.s.l.). Alicante is a medium-size city (~330,000 inhabitants) located on the Mediterranean coast, south of the Valencian Community (Fig. 1a). The climate in the study area according to the Köppen climate classification is defined as hot semi-arid (Bsh), with soft winters and long dry summers. January is the coldest month with an average temperature of 12 °C, while the highest temperatures are usually recorded in August (~26 °C). During the pollination period in spring, the average seasonal temperature is around 19 °C. Annual precipitations are low, generally less than 300 l·m⁻², and mainly concentrated in spring and autumn. Because Alicante is a coastal city, the average annual humidity is around 66%, varying little over the year. The predominant wind direction during spring and summer is from the sea (southeast), with a typical regime of Mediterranean Sea breezes, while in the colder months the wind usually blows from the northwest.

Fig. 1a shows the main olive-growing regions in Spain. Only those regions where the cropped area is greater than 2% are shown. These data correspond to the year 2013 and has been obtained from the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAPA, 2013). It is assumed that the percentage of agricultural areas within a region is linked to the potential relative emissions of *Olea* pollen in that region. Undoubtedly, Andalusia is the region where emissions of olive pollen into the atmosphere are highest, especially the provinces of Jaen and Cordoba (~60%). Only 3.7% of Spain olive cultivation occurs in the Valencian region, of which approximately one third corresponds to the area of Alicante. The most

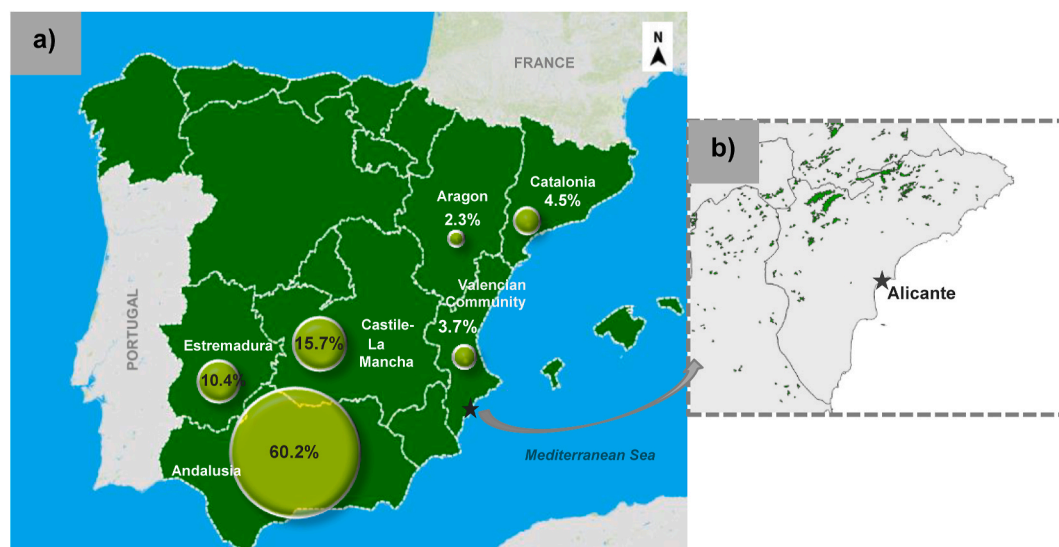


Fig. 1. a) Location of the sampling site and percentage of cultivated areas of olive trees in Spain (only those regions where the cultivated area represents at least 2% of the total cultivated area of olive groves in Spain are shown) (MAPA, 2013). b) Cultivated area of olive groves in the province of Alicante, obtained from the CORINE Land Cover database (CLC, 2012).

representative varieties of olive trees cultivated in Alicante are mainly native species such as Villalonga, Blanqueta, Alfafara, Changlot Real, Callosina and Lechin de Granada. The latter was the most important variety found in the surroundings of the city, but it has almost disappeared due to the increase in tourism activity in recent years (Paz, 2010). Currently, the cultivation of olive trees is concentrated in the northern area of the region (Fig. 1b), where a progressive increase in the cultivation of more productive and resistant foreign varieties, such as Picual, has been observed.

2.2. Aerobiological and meteorological data

Data on pollen concentrations during the study period were obtained from the Alicante pollen station belonging to the Aerobiology Committee of the Spanish Society of Allergology and Clinical Immunology (SEAIC). A Burkard Spore Trap (Burkard Manufacturing Co. Rickmansworth, Hertfordshire, U.K.) with a flow rate of $10 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ was used. The trap was placed on the roof of the Specialty Center of the Valencian Health Service located north of the city, at a height of approximately 20 m above ground level. Sampling and analysis were performed in accordance with the standard protocol drawn up by the Spanish Aerobiology Network (Galán et al., 2007), and the minimum recommendations of the European Aeroallergen Network (EAN) (Galán et al., 2014). The terminology used in this paper follows the International Association for the Aerobiology (IAA) and EAS recommendations (Galán et al., 2017).

The aerobiological data series studied in this work comprised 2-hour and daily *Olea* pollen concentrations, expressed as the average daily number of pollen grains per cubic meter of air ($\text{pollen grains}\cdot\text{m}^{-3}$), from 2010 to 2015. There was a number of missing data during the olive pollination season in 2012 and 2015 due to uptake failures, which did not exceed 20% of the total number of data.

In this study, the main pollen season (MPS) was defined as the period of time in which 95% of the *Olea* pollen was collected, discarding the two tails of the annual distribution (Andersen, 1991). The start date of the *Olea* pollen season (SPS) was defined as the day on which 2.5% of the total pollen load of the year was recorded. The end date (EPS) was the day on which 97.5% of the total pollen load of the year was registered, and the length of the pollen season (LPS) was defined as the number of days between the start and the end of the season. The sum of all *Olea* pollen daily concentrations throughout the year was defined as the annual pollen integral (APIn). The maximum pollen concentration of the year was the peak concentration (PC) and the day on which it was recorded was defined as the peak date (PD).

Daily meteorological data were obtained from the Rabasa-Alicante weather station belonging to the Air Quality Surveillance Network of the Regional Government located $\sim 2 \text{ km}$ northwest from the monitoring site. The following meteorological data were studied: mean, maximum and minimum air temperature; average solar radiation; cumulative rainfall; average relative humidity and average wind speed.

2.3. Data analysis: methodology and cluster analysis

A descriptive analysis of the variation of pollen parameters was performed and daytime patterns of *Olea* pollen concentrations were determined from 2-hour data. The Spearman's correlation test was used to identify potential correlations between pollen concentrations and weather variables, considering the main pollen season and the Pre-Peak period. The Pre-Peak period, defined as the period running from the SPS until the PD, is more reliable than the MPS to explain phenomena such as pollen emissions (Ribeiro et al., 2006; Pérez-Badía et al., 2011). The Mann-Kendall test was used to detect temporal trends in the pollen parameters.

The origin of the air masses reaching the sampling site during the MPS each year was determined by means of the HYSPLIT model developed by the NOAA's Air Resources Laboratory (Draxler and Rolph,

2013), which has been widely used to explain atmospheric transport patterns (Smith et al., 2008; Skjøth et al., 2009; Izquierdo et al., 2011; Zemmer et al., 2012; Galindo et al., 2017; Galveias et al., 2021). Back trajectories using the vertical model with time intervals of 2 h between each consecutive trajectory were calculated. Air-mass movements were charted over a 36-h period, as it was estimated that the transport time of air-masses from the main source regions to the sampling site may occur on time scales shorter than 36 h, and at a final height of 500 m a.g.l. in order to ensure that the trajectory finished in the atmospheric boundary layer (ABL), as in several previous studies (e.g. Hernández-Ceballos et al., 2011, 2014; 2015; Rojo and Pérez-Badía, 2015). The meteorological input was obtained from the NCEP (National Center for Environmental Prediction) using the GDAS (Global Data Assimilation System) database.

Cluster analysis was used to classify back trajectories for each year individually, with the aim of identifying patterns summarizing the variability of air-mass origins in Alicante over the study period. To obtain the clusters, the HYSPLIT model has a grouping module based on variations in the total spatial variance (TSV) between different clusters, which is compared with the spatial variance (SPVAR) within each cluster component. The final number of clusters was determined by changes of more than 40% in the TSV calculated as clusters were iteratively paired. The resulting clusters represent the main air mass origins and, therefore, the possible contribution of olive pollen transported from other regions. A cluster pollen index (CPI) was calculated as the sum of 2-hour pollen concentrations for each cluster (Izquierdo et al., 2015). Linear regression analysis was applied to study the relationships between the CPI (the contribution of olive pollen transported from different sources regions) and the annual pollen integral in order to quantify the influence of *Olea* pollen transported from others areas on the annual levels registered in the city of Alicante. Therefore, we can define the external pollen index (EPI) as the contribution of *Olea* pollen transported from distant regions to the concentrations measured at the sampling site.

Olea pollen allergy risk was determined based on the number of days in which pollen concentrations exceeded the values established by the Spanish Aerobiology Network for arboreal taxa: $< 50 \text{ pollen grains}\cdot\text{m}^{-3}$ for low risk, $50\text{--}200 \text{ pollen grains}\cdot\text{m}^{-3}$ for moderate risk and $> 200 \text{ pollen grains}\cdot\text{m}^{-3}$ for high risk. These thresholds refer to pollen concentrations associated with the possibility of causing symptoms in a medium or high percentage of the allergic population (Galán et al., 2007). However, the variability in the relationship between pollen concentrations and allergy symptoms has highlighted the difficulties in finding a universal clinical threshold. Such thresholds depend largely on the amount of pollen to which the allergic population is usually exposed, which in turn depend on the local flora and, therefore, on the geographical area (Cecchi, 2013). For example, *Olea* pollen concentrations higher than $400 \text{ pollen grains}\cdot\text{m}^{-3}$ caused mild rhinitis symptoms in the allergic population of an area with a high density of olive groves (Florido et al., 1999). In contrast, in areas with a lower crop density, concentrations of $162 \text{ pollen grains}\cdot\text{m}^{-3}$ or even much lower were enough to induce allergic effects (Waisel et al., 2004; Feo Brito et al., 2011). Therefore, if useful information is to be provided to the allergic population, adequate thresholds should be determined for each geographic area and for each type of pollen. In this work, given the difficulties of obtaining clinical information, *Olea* pollen exposure levels were estimated for the study area. In order to minimize the influence of extreme concentrations and, in general, of the interannual variability in pollen levels, the average value for each day of the MPS during the six years of measurements was calculated. Different percentiles from P2.5 to P97.5, which include 95% of the data, were calculated at intervals of 2.5%. As in previous studies, the 99th percentile was also included (Gabaldón-Arguisuelas, 2016; Galera et al., 2018). Then, each percentile value of *Olea* pollen concentrations was graphically represented against the percentile number. Finally, exposure thresholds were determined by linear regression analysis, since a linear relationship was observed

between pollen concentrations and the symptoms developed by the allergic population (DellaValle et al., 2012; Kiotseridis et al., 2013). These thresholds will be used to define exposure levels to olive pollen from Low to Very High based on the change in the slope between two consecutive lines. The exposure levels determined from this methodology are proposed as a proxy for different risk categories for the allergic population in the city of Alicante.

3. Results and discussion

3.1. Annual and intradiurnal variation of *Olea* pollen concentrations

3.1.1. Annual variation

Olea pollen is the most representative taxon, along with *Cupressaceae*, *Quercus* and *Pinus*, within the pollen spectrum of the city of Alicante. The annual *Olea* pollen concentrations showed significant variations throughout the study period. The average APIn was 2671 pollen grains·m⁻³, with a maximum concentration of 3598 pollen grains·m⁻³ in 2013 and a minimum concentration of 1794 pollen grains·m⁻³ in 2011 (Fig. 2). The APIn was significantly lower than those obtained in regions with extensive areas of olive groves located in the southwest of the Iberian Peninsula, such as Cordoba in the north of Andalusia (~30,000 pollen grains·m⁻³) (Plaza et al., 2016) and Badajoz in the south of the Extremadura region (~8000 pollen grains·m⁻³) (Fernández-Rodríguez et al., 2014) (see Fig. 1). The reason is that the larger the cultivated area, the greater the pollen emissions into the atmosphere (Galán et al., 2004). Biennial variations in APIn values were not observed, as reported in other studies (e.g. Galán et al., 2001; Ribeiro et al., 2005; Ben Dhiab et al., 2017). This behavior is related to the reproductive cycle of the olive tree that lasts two years (Al-Shdiefat and Grunfleh, 2010). The intensity of the flowering of the olive tree,

represented by the APIn, depends on emission and dispersion factors. Since there are few groves of olive trees in the study area, we think that the influence of dispersion factors is greater.

During the study period, all the pollen parameters showed significant annual variations. The *Olea* MPS in Alicante occurs from mid-April to early July, with the highest pollen concentrations in May (Fig. 2). The monthly distribution of *Olea* pollen concentrations registered in Alicante showed, in addition to the maximums found in May (~67%) and June (~25%), high concentrations of pollen in April (~7% of the APIn) and July (~1% of the APIn) that were associated with a longer MPS. The earliest SPS was in 2014 (MPS 74 days) and the latest EPS in 2013 (MPS 84 days). The average duration of the MPS for the entire period was 67 days. Previous studies in Southern Europe showed much lower values (Orlandi et al., 2010; Ruiz-Valenzuela and Aguilera, 2018). The early start observed in 2014, with a pollen percentage of 33% in the month of April, was also detected in Cordoba and was attributed to an early flowering of olive trees due to the warm weather that year (Plaza et al., 2016). Peak concentrations varied from 170 pollen grains·m⁻³ in 2011 to 741 pollen grains·m⁻³ in 2015. The concentration in 2015 was unusually high since values below 400 pollen grains·m⁻³ were observed the remaining years. The PC was usually recorded in mid-May, during the first third of the MPS. The only exception occurred in 2013 when the PD was in June due to a delay in the end of the pollen season. According to Aguilera et al. (2015), the occurrence of the PD in June is characteristic of regions located at higher latitudes. As observed for the APIn, PC values were much lower than those measured in areas with intensive olive cultivation and similar to those obtained in nearby areas (Galera et al., 2018; Fernández et al., 1995) where an alternation in flowering does not occur either.

APIn values showed a slightly increasing trend during the study period, although it was not statistically significant (according to the

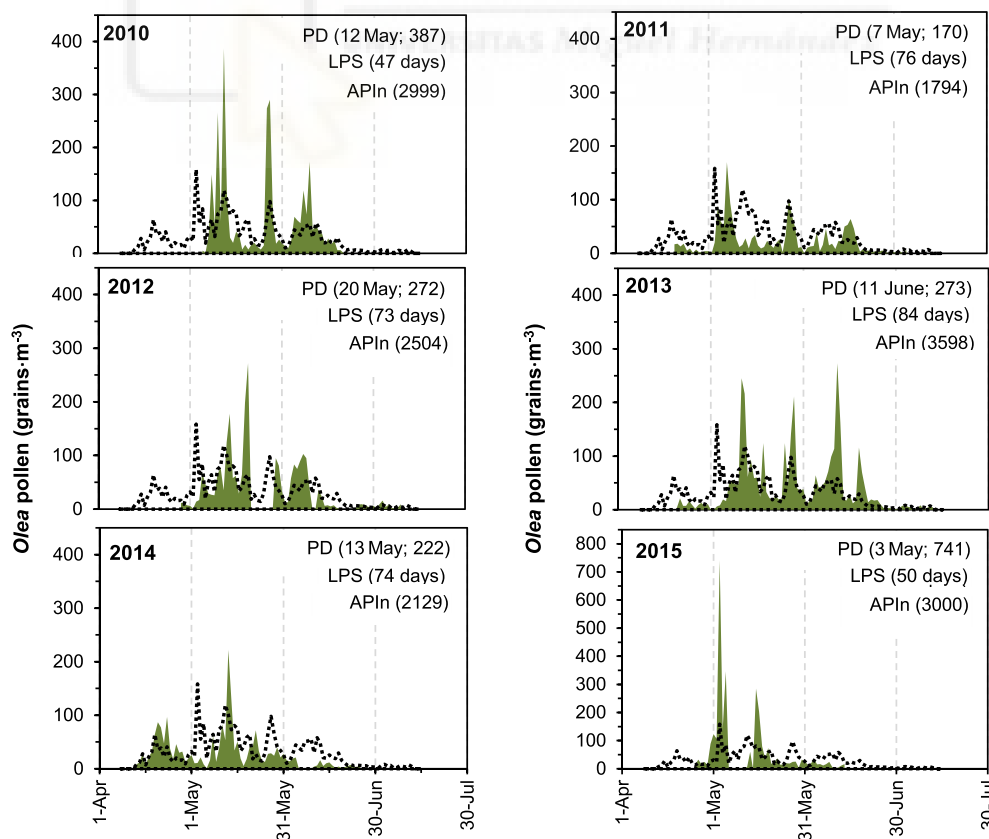


Fig. 2. Daily variations of *Olea* pollen concentrations in Alicante, and main pollen parameters (DP: peak day; and concentration in pollen grains·m⁻³, LPS: length main pollen season, APIn: annual pollen integral in pollen grains·m⁻³) during the six study years. The dotted line represents the average daily variation in the city during 2010–2015.

Mann-Kendall test). In fact, significant trends were not observed for any of the pollen parameters, perhaps due to the limited number of years included in the study.

During the MPS each year, peak concentrations higher than the average value for the whole study period were recorded over two or three periods of six to eleven consecutive days (including PD) (Fig. 2). Those periods comprised between 25% and 68% of the APIn. The lowest percentages were found in 2011 and 2014, when values of pollen parameters were also lowest (with the exception of the LPS). In contrast, the highest number of peak days occurred in 2013, 2010 and 2015 (in this order) concurrently with the highest APIn values. Although the number of peak days in 2015 was lower than in 2010 and 2013, unusually high pollen concentrations were observed that year, as previously mentioned. These periods with unusually high peak concentrations could be one of the reasons for the increase in the population sensitized to *Olea* pollen in the region that was described in Fernández et al. (2015). However, the monitoring of the amount of allergen in the air would be needed to verify this hypothesis, since the sensitization of allergic patients are associated to the protein content of pollen grains.

3.1.2. Intradaily variability

The average daily variation of *Olea* pollen concentrations for the whole study period did not show the characteristic maximum during the central hours of the day associated with the maximum flower efflorescence (von Wahl and Puls, 1989; Galán et al., 1991). This would suggest that pollen sources are outside the city (Fernández-Rodríguez et al., 2014). In the present study, the average *Olea* pollen daily concentration was ~41 pollen grains·m⁻³, showing two peaks throughout the day (Fig. 3a). The first peak, with the highest rate of pollen (~38%),

occurred during the hours before sunrise (02:00–08:00 UTC), reaching its maximum value from 04:00 to 06:00 UTC. The second peak, less pronounced than the first one (~25%), occurred during the afternoon and reached its maximum concentration at 16:00 UTC. The daily pattern of pollen concentrations could be partly explained by the variation in meteorological conditions (Fig. 3b), due to the complex interactions between local and remote sources located mainly to the west (Fernández-Rodríguez et al., 2020). Since local emissions of pollen in the study area are expected to be low, atmospheric transport from remote sources could be important. The smaller increase in pollen concentrations during the afternoon could be associated with the accumulated precipitation between 12:00 and 20:00 UTC, with average levels of ~7 l·m⁻² and exceeding 10 l·m⁻² at 12:00 UTC. In addition, from 18:00 UTC a progressive increase in relative humidity was observed with a simultaneous decrease in temperature, solar radiation and wind speed. The cleaning effect of rain and the growth of pollen grains due to increased relative humidity, together with the absence of convective movements and the decrease in wind speed, favor the deposition of pollen grains and contribute to the decrease in airborne pollen concentrations (Recio et al., 1996). Maximum values for RH and minimum values for T and WS were observed throughout the night. However, during this time interval, 2-hour pollen concentrations were highest. Therefore, the *Olea* pollen peak could be due to the contribution of pollen from non-local sources. Pollen transport from other source regions is usually associated with unexpected high concentration (Hernández-Ceballos et al., 2011; Pérez-Badía et al., 2010; Monroy-Colina et al., 2020).

3.2. Correlation with meteorological parameters

Table 1 shows mean values of meteorological parameters during the MPS each year of the study period. Cumulative rainfall data are also presented.

Most of the measured meteorological parameters did not show a remarkable inter-annual variation since the MPS comprised spring months. On the other hand, due to the coastal location of the city, the prevailing wind regime during that period was from the sea. Average temperatures were mild, oscillating between 20.0 °C in 2013 and 22.5 °C in 2012. The thermal oscillation (T_{max}-T_{min}) was fairly constant throughout the study period, between 7 and 8 °C. The accumulated precipitation reflects the aridity of the study area. In four of the studied years the accumulated rainfall during the MPS was lower than 8 l·m⁻². The years with the highest percentage of rainy days, 2010 (~13%) and 2013 (~8%), annual pollen rates were also highest (see Fig. 2).

Table 2 presents Spearman correlation coefficients between meteorological parameters and pollen concentrations. The correlation was calculated for both the MPS and the Pre-Peak period.

Thermal parameters showed the highest correlations with pollen concentrations. In general, correlations during the Pre-Peak period were higher than those calculated for the MPS. On the other hand, positive correlations were obtained during the Pre-Peak period, while those found during the MPS were negative. Equivalent results were reported in previous studies carried out in the Iberian Peninsula. The better

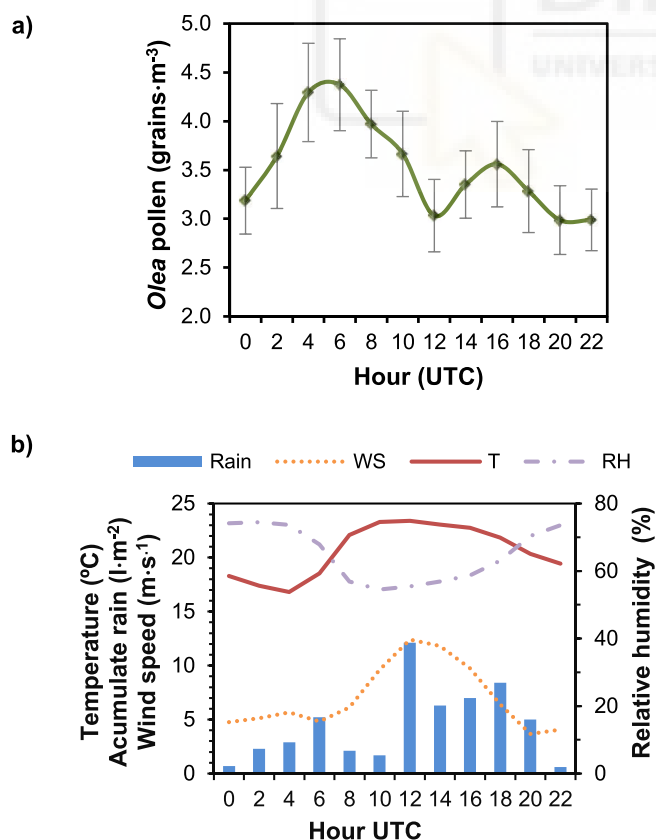


Fig. 3. 2-hour average variations of a) *Olea* pollen concentrations (Vertical lines represent the mean standard error), and b) Meteorological variables (Rain: accumulate rain, WS: wind speed, T: mean temperature, RH: relative humidity) registered in Alicante during *Olea* pollen seasons of 2010–2015.

Table 1
Summary statistics of meteorological data in Alicante during the *Olea* MPS.

Year	WS (m·s ⁻¹)	T _{mean} (°C)	T _{max} (°C)	T _{min} (°C)	RH (%)	SR (W·m ⁻²)	Rainfall (N) (l·m ⁻²)
2010	0.7	20.3	24.0	15.9	60.8	266.2	34.7 (6)
2011	0.7	20.9	24.3	17.0	64.9	252.0	4.8 (1)
2012	0.8	22.5	26.1	18.2	66.4	296.7	3.4 (1)
2013	0.7	20.0	23.3	16.0	69.9	285.4	47.2 (7)
2014	0.8	20.4	23.9	16.4	64.4	283.8	5.8 (2)
2015	0.6	21.4	25.5	16.7	59.2	277.6	7.1 (2)

WS: Wind Speed; T: Temperature; RH: Relative Humidity; SR: Solar Radiation; N: Number of days with precipitation > 1 l m⁻².

Table 2Spearman correlation coefficients between meteorological variables and *Olea* pollen daily concentrations during the MPS and the Pre-Peak period.

	Period	2010	2011	2012	2013	2014	2015
WS	Pre-Peak	-0.109	0.208	-0.424	-0.157	0.457 ^a	-0.293
	MPS	0.069	0.060	-0.139	0.234 ^a	0.195	-0.315 ^a
T _{mean}	Pre-Peak	0.857 ^a	0.188	0.862 ^b	0.571 ^a	0.674 ^b	0.647
	MPS	0.046	-0.020	-0.269 ^a	-0.023	-0.340 ^b	-0.167
T _{max}	Pre-Peak	0.750	0.196	0.857 ^b	0.556 ^a	0.577 ^b	0.190
	MPS	0.090	-0.048	-0.266 ^a	0.015	-0.286 ^a	-0.098
T _{min}	Pre-Peak	-0.036	0.404	0.414	0.181	0.610 ^b	0.476
	MPS	0.167	-0.095	-0.188	0.015	-0.329 ^b	-0.055
RH	Pre-Peak	0.414	0.320	-0.611 ^b	-0.405	-0.104	-0.190
	MPS	0.282	-0.168	0.014	-0.249 ^a	-0.136	0.165
SR	Pre-Peak	0.107	0.491	0.109	0.191	-0.624 ^b	-0.024
	MPS	-0.212	0.127	-0.238 ^a	-0.149	-0.170	-0.130
Rain	Pre-Peak	0.045	-0.010	-0.325	-0.305	0.251	0.082
	MPS	0.119	-0.093	0.022	-0.018	0.111	0.014

^a Correlation significant at the 0.05 level (2-tailed).^b Correlation significant at the 0.01 level (2-tailed).

correlation between thermal parameters and pollen concentrations during the Pre-Peak period may be due to the increase in pollen emissions as temperature increases (Aguilera and Ruiz, 2012). An increase in ambient temperature of 5–7 °C between the start of the MPS and the PD was observed during the studied years. After the PD, pollen emissions gradually begin to decrease independently of the temperature, causing a negative correlation between both parameters (García-Mozo et al., 2006). This was more evident in 2012 and 2014 due to a more Gaussian shape of pollen concentration those years (Fig. 2). On the other hand, Vázquez et al. (2003) associated these conflicting results to the presence of pollen transported from distant sources to the monitoring site. As anticipated, negative correlations between pollen concentrations and relative humidity and accumulated rainfall were obtained, although these correlations were not statistically significant (with the exception of those calculated for the Pre-Peak period in 2012). Negative correlations with rainfall were lower than expected in both periods. This could be due to the low number of days with an accumulated precipitation above a certain threshold. Although moderate rain tends to negatively correlate with daily pollen concentrations, only heavy rain (>10 l·m⁻²·day⁻¹) always does (Barnes et al., 2001).

The relationship between meteorological parameters and pollen release mechanisms has been well established by several previous studies (eg: Moriondo et al., 2001; García-Mozo et al., 2008; Achmakh et al., 2015). The low correlations observed in this study, especially during the MPS, could be due to the masking effect of other factors such as long-range transport of pollen (Skjøth et al., 2008; Makra et al., 2010; Maya-Manzano et al., 2016).

3.3. *Olea* pollen origin

3.3.1. Cluster analysis of backward trajectories

Backward trajectory analysis provides information on the origin of air masses arriving at Alicante. Following the procedure described in section 2.3, a total of 4428 2-hour back trajectories were computed during the *Olea* MPS from 2010 to 2015. Cluster analysis performed for each year individually resulted in 3 or 4 clusters. The mean paths and number of back-trajectories (in percentage) associated to each cluster are presented in Fig. 4. In general, during the study period, the air mass flows that arrived at the city of Alicante at 500 m a.g.l. were identified as: South-Western (SW), North-Western (NW), Northern (N), Eastern (E) and Regional Recirculation (RR). The last one refers to short trajectories representing slow-moving air masses.

The most frequent air mass was the Regional Recirculation, while the least frequent was the Eastern flow. The combined contribution of these trajectories was on average 45%, ranging from 36% in 2013 to 59% in 2011 (Fig. 4). The frequency of air masses from the SW was between 19% in 2011 and 36% in 2012, and was not observed in 2013. On the

other hand, the frequency of the Northwesterly flow was highest in 2013 (34%), and less frequent in 2012 (21%) and 2014 (8%). Finally, the percentage of air masses coming from the North was about 25%, except in 2012.

According to Fig. 1, significant amounts of olive pollen can be transported to the study area by air masses coming from the SW, since they travel over regions of Spain, such as Andalusia, where olive groves dominate. Likewise, air masses from the NW (passing over the center of the Iberian Peninsula) could also contribute to increase the concentrations of *Olea* pollen in Alicante. In contrast, no contributions from Regional Recirculations, Eastern and Northern flows are expected. The city of Alicante is located in a region where the cultivated area of olive groves is low, and the Mediterranean Sea is located in the eastern direction. Similarly, advections from the North are expected to have little influence on *Olea* pollen concentrations recorded in Alicante, although they travel over regions with extensive cultivation of olive trees. This can be due to the following reasons: a) they travel at high altitudes that are not reached by pollen grains (Fernández-Rodríguez et al., 2014), or b) they end up traveling over the Mediterranean Sea at low altitudes, which causes rehydration of pollen grains favoring their deposition and/or osmotic breakdown (Vázquez et al., 2003). Consequently, air masses from the SW and NW sectors are the most likely to transport *Olea* pollen to the study area. In addition, it would be expected that the higher the frequency of air masses coming from those directions, the greater the external contribution to pollen levels registered in Alicante. Nevertheless, the annual variability in the fraction of the total trajectories that came from a given direction did not show any clear relationship with the annual pollen integral recorded for each year of the study. The lowest APIn was registered in 2011 due to the higher frequency of the Regional Recirculation and Eastern trajectories (air masses of Local and Mediterranean origin). However, a low APIn value was also recorded in 2014, although the most frequent air masses came from the Southwest and Northwest (see Fig. 2). This is possibly due to the fact that the transport of pollen from source regions depends not only on the origin of air masses but also on pollen emissions in those regions, which vary significantly throughout the day (Fernández-Rodríguez et al., 2014).

3.3.2. Quantification of the external pollen index (EPI)

The influence of air mass origins on annual pollen levels was analyzed from the sum of pollen concentrations for each cluster (CPI). For the whole study period, 39% of the mean CPI was associated with the Southwestern cluster, 17% with the Northwest cluster, 14% with Northerly air, 6% with the East air flow, and only 22% was of Regional origin. As expected, Southwestern air masses made the greatest contribution to *Olea* pollen levels at Alicante. Fig. 5 shows the *Olea* pollen contribution from each source direction to the APIn value for each year individually. Higher APIn values were generally associated with a

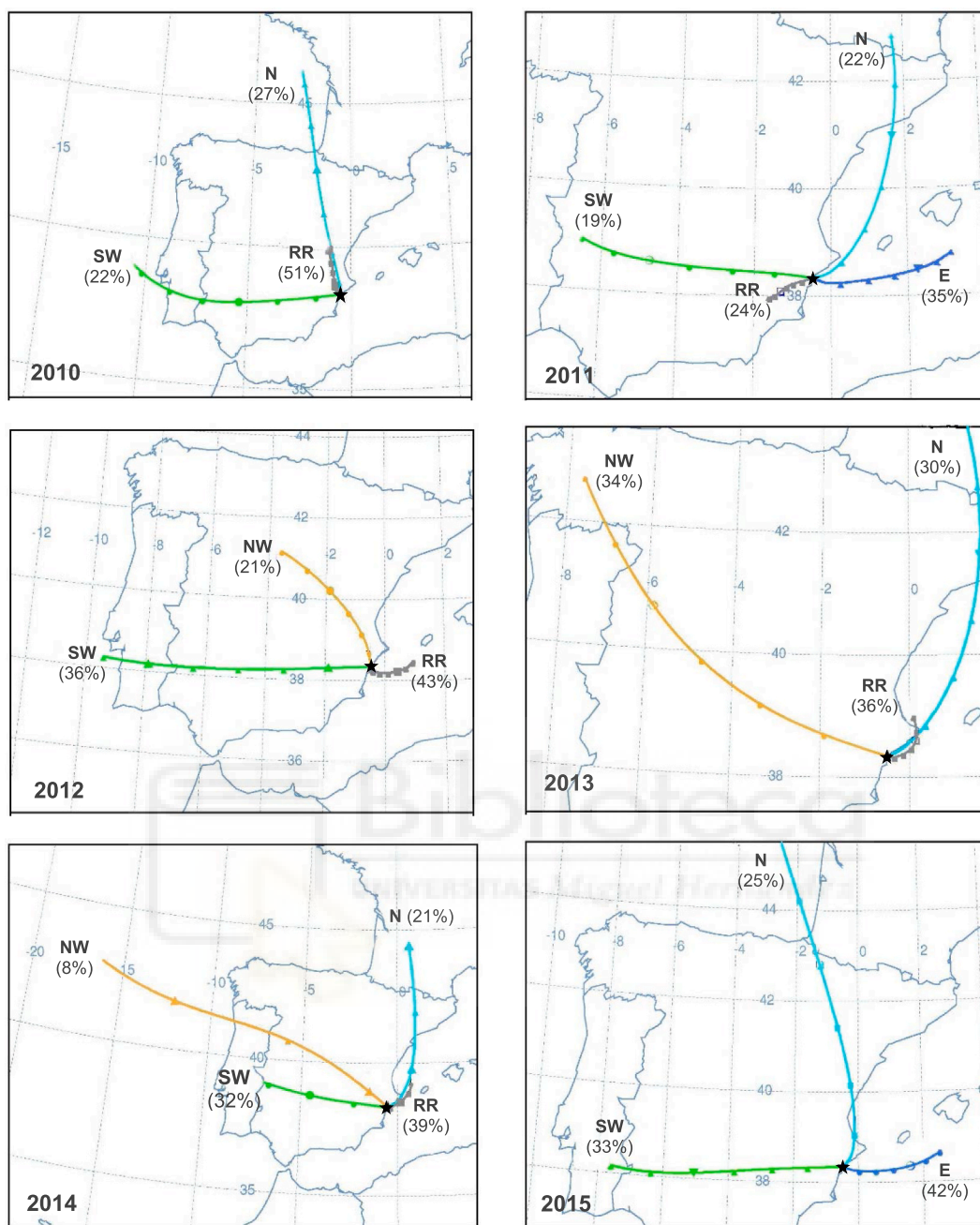


Fig. 4. Mean back trajectories for the main clusters at Alicante for 2010–2015 (in brackets, percentage trajectories occurring in each cluster).

higher CPI from the SW, with the exception of 2013, when the highest API_n of the whole study period was measured. In 2013, a higher frequency of air masses coming from the Northwest (34%) was observed. A moderate contribution of pollen transported from this direction was expected (see Fig. 1). In fact, peak concentrations did not exceed 273 pollen grains·m⁻³. However, these contributions occurred repeatedly throughout the entire MPS in 2013, causing an increase in the API_n value (see Fig. 2). Another factor that probably explains the maximum API_n recorded in 2013 is that the MPS was longer than the other years and therefore higher contributions of pollen from others regions occurred.

In order to analyze the relationship between individual contributions from each cluster (CPI) and the annual pollen integral (API_n) a simple linear regression analysis was performed. Although correlations were not strong, the sum of pollen contributions corresponding to air masses coming from the SW and NW showed the highest correlation coefficient

(p-value 0.013) (Fig. 6). This result makes the total contribution from Western sources a good predictor of the annual concentration of *Olea* pollen registered in Alicante. Consequently, the External Pollen Index (EPI) was defined as the sum of 2-hour *Olea* pollen concentrations from Western trajectories (considering both the NW and SW directions). The EPI value for the whole study period was 57%, ranging from 27% in 2011 to 70% in 2010. These results indicate that the contribution of pollen from external sources can be very significant in Alicante. Furthermore, Fig. 6 shows that the maximum API_n value in Alicante, in the absence of external contributions, would be around 1300 pollen grains·m⁻³. This value represents the total concentration of *Olea* pollen originating from local sources, which depends on the phenological characteristics of olive trees and the meteorology of the study area. Therefore, the transport of *Olea* pollen from Western regions largely explains the variations in the annual levels of *Olea* pollen registered in the city of Alicante and possibly the unusual high concentrations

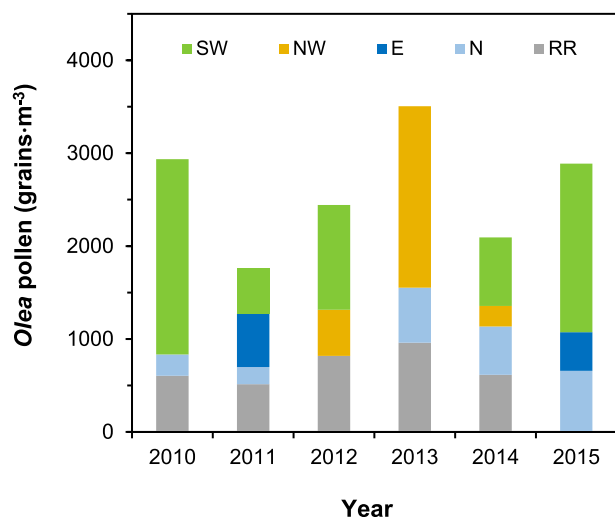


Fig. 5. Contribution of each cluster (CPI) to the annual pollen integral (APIn) registered in Alicante during 2010–2015. Clusters were identified as follows: South-Western (SW), North-Western (NW), Northern (N), Eastern (E) and Regional Recirculation (RR).

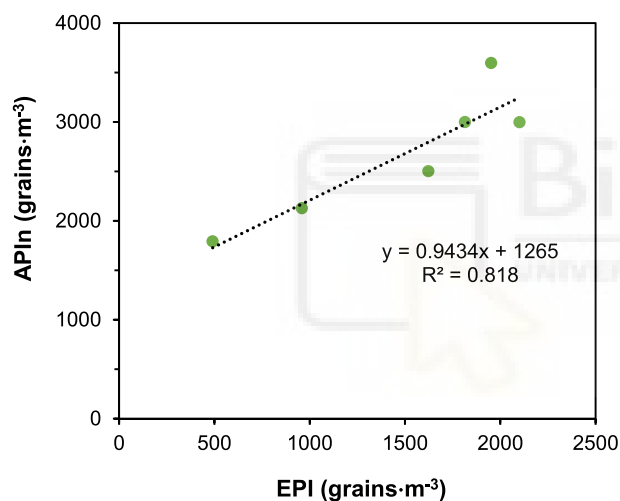


Fig. 6. Correlation between the annual pollen integral (APIn) and the external pollen index (EPI) during 2010–2015.

recorded throughout the entire MPS.

3.4. *Olea* pollen exposure levels

In order to determine exposure levels, an analysis of average daily pollen concentrations during the MPS for the whole study period (2010–2015) was performed. Percentile concentrations showed an exponential relationship with the percentile number (Fig. 7a). However, data can be adjusted to a linear function for each section of the graph ($R^2 = 0.92$). These sections are better observed if data are represented on a logarithmic scale, as indicated by the continuous black line in Fig. 7a. The slope of the line increases from one section to another at the 37.5th, 75th and 95th percentiles. Exposure thresholds correspond to these percentile concentrations of olive pollen. In the city of Alicante, these thresholds were classified into four classes: Low (<20 pollen grains·m⁻³), Moderate (20–50 pollen grains·m⁻³), High (51–100 pollen grains·m⁻³) and Very High (>100 pollen grains·m⁻³). These values were significantly lower than risk thresholds indicated by the REA for albreal taxa (see Section 2.3), but similar to exposure thresholds proposed for other regions with a low density of olive groves (Gabalón-Arguisuelas,

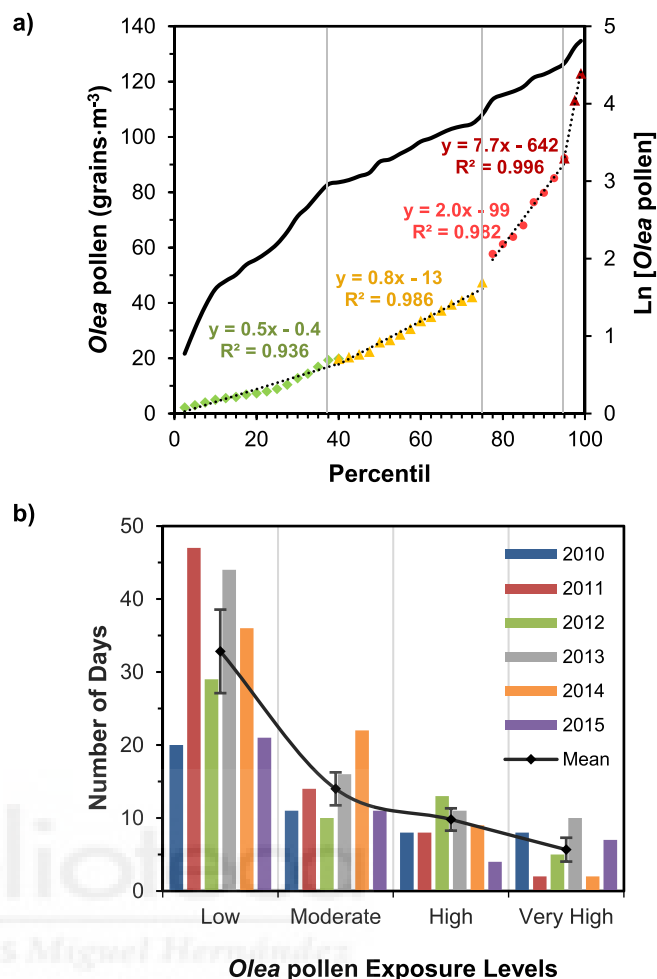


Fig. 7. a) Plot of the percentile concentration of *Olea* pollen against the percentile number. b) Number of days with *Olea* pollen concentrations within each exposure range determined for the city of Alicante. The black line represents the mean value for each interval.

A., 2016; Galera et al., 2018).

During the whole study period, pollen concentrations exceeded the highest threshold established by the REA on only 14 days. On the other hand, allergy risk was Low on more than 75% of the days during the study period. In spite of this, *Olea* pollen has been identified as one of the main causes of allergy in this region (Fernández et al., 2015). Fig. 7b shows the number of days with *Olea* pollen concentrations corresponding to the exposure levels determined for Alicante. The figure also shows the mean value (black line) for each interval. Low pollen concentrations were the most frequent in Alicante. The years when the number of days with Very High exposure levels were highest, APIn values were also highest (see Fig. 2). The Spearman correlation coefficient between these two parameters was 0.928 (p-value 0.008). Statistical analyses were also conducted between the number of days with Low, Moderate and High pollen levels, and pollen parameters. Strong positive correlations were obtained between the number of days with Low pollen concentrations and the LPS (0.943, p-value 0.005), and also between the number of days with concentrations greater than 50 pollen grains·m⁻³ (calculated as the sum of the number of days with High and Very High levels) and the PD (0.812, p-value 0.05). High and Very High concentrations were unevenly distributed over the duration of the MPS as a result of pollen transport from SW and NW regions. Pollen transport from western areas was also associated with a later PD and with lower concentrations during longer MPS, as previously described. Exposure to concentrations higher than 100 pollen grains·m⁻³ during short time

periods (Lake et al., 2017) and greater than 50 pollen·m⁻³ during long time periods (Scevkova et al., 2015) would lead to a higher risk for the population.

4. Conclusions

Medium-range transport of pollen had a significant impact on annual *Olea* pollen concentrations measured in the city of Alicante, masking the influence of local meteorological parameters on pollen concentrations. Pollen transported from western regions contributed 57% to the annual average concentration. The non-local contribution to pollen levels was quantified using a new parameter called External Pollen Index (EPI), representing the sum of the concentrations of *Olea* pollen transported by air masses coming from the SW and NW sectors. External inputs contributed not only to the increase in the annual pollen integral, but also had an impact on the duration of the MPS, the maximum concentrations recorded at the sampling site, and the date of the Peak Concentration. Likewise, the transport of pollen from western regions was the most likely cause of High and Very High exposure levels.

Exposure threshold values for the city of Alicante were determined using a new method based on statistical percentiles. This approach could be easily applied to other types of pollen and to any area where historical information on pollen concentrations is available. *Olea* pollen exposure levels in Alicante were classified as Low (<20 pollen grains·m⁻³), Moderate (20–50 pollen grains·m⁻³), High (51–100 pollen grains·m⁻³) and Very High (>100 pollen grains·m⁻³).

The external contribution to pollen levels in certain areas largely depends on the concentrations registered in the source regions located in western and central Iberian Peninsula. Therefore, the regions with a large density of olive groves should be considered as a reference to establish the pollination period in locations where this species is not so common. In addition, further research should focus on new methodologies to predict external contributions to pollen levels in order to be able to alert the allergic population of unusually high concentrations.

CRedit authorship contribution statement

A. Viney: Writing – original draft, Methodology, Investigation. **J.F. Nicolás:** Formal analysis, Writing – review & editing. **N. Galindo:** Writing – review & editing. **J. Fernández:** Conceptualization, Resources. **V. Soriano-Gomis:** Investigation, Data curation. **M. Varea:** Writing – original draft, Writing – review & editing, Visualization, Supervision.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

We acknowledge the support from the Spanish Society of Allergy and Clinical Immunology; and, the Allergy Division of Laboratorios LETI S.L. Barcelona. We also want to thank F. Javier Suarez Perez, technician at the Valencian Association of Allergy and Clinical Immunology; and, Ignacio Melendez, Group of Environmental Soil Science (Miguel Hernandez University) for his assistance with Corinne Land Cover.

References

Aguilera, F., Ruiz-Valenzuela, L., 2012. Altitudinal fluctuations in the olive pollen emission: an approximation from the olive groves of the south-east Iberian Peninsula. *Aerobiologia* 28 (3), 403–411. <https://doi.org/10.1007/s10453-011-9244-9>.

Aguilera, F., Ruiz, L., Fornaciari, M., et al., 2014. Heat accumulation period in the Mediterranean region: phenological response of the olive in different climate areas

(Spain, Italy and Tunisia). *Int. J. Biometeorol.* 58, 867–876. <https://doi.org/10.1007/s00484-013-0666-7>.

Aguilera, F., Dhiab, A.B., Msallem, M., et al., 2015. Airborne-pollen maps for olive-growing areas throughout the Mediterranean region: spatio-temporal interpretation. *Aerobiologia* 31, 421–434. <https://doi.org/10.1007/s10453-015-9375-5>.

Alcázar, P., Ørby, P.V., Oteros, J., Skjøth, C., Hertel, O., Galán, C., 2019. Cluster analysis of variations in the diurnal pattern of grass pollen concentrations in Northern Europe (Copenhagen) and Southern Europe (Cordoba). *Aerobiologia* 35, 269–281. <https://doi.org/10.1007/s10453-019-09558-2>.

Al-Shdiefat, S.M., Qrunfleh, M.M., 2010. Alternate bearing of the olive (*Olea europaea* L.) as related to endogenous hormonal content. *Jordan J. Agric. Sci.* 4, 12–25.

Andersen, T.B., 1991. A model to predict the beginning of the pollen season. *Grana* 30, 269–275. <https://doi.org/10.1080/00173139109427810>.

Achmakh, L., Bouziane, H., Aboulaich, N., et al., 2015. Airborne pollen of *Olea europaea* L. in Tetouan (NW Morocco): heat requirements and forecasts. *Aerobiologia* 31, 191–199. <https://doi.org/10.1007/s10453-014-9356-0>.

Barnes, C., Pacheco, F., Landuyt, J., et al., 2001. The effect of temperature, relative humidity and rainfall on airborne ragweed pollen concentrations. *Aerobiologia* 17, 61–68. <https://doi.org/10.1023/A:1007693032090>.

Ben Dhiab, A., Ben Mimoun, M., Oteros, J., et al., 2017. Modeling olive-crop forecasting in Tunisia. *Theor. Appl. Climatol.* 128, 541–549. <https://doi.org/10.1007/s00704-015-1726-1>.

Bonifoglio, T., Orlandi, F., Sgromo, C., et al., 2009. Evidences of olive pollination date variations in relation to spring temperature trends. *Aerobiologia* 25, 227. <https://doi.org/10.1007/s10453-009-9128-4>.

Cecchi, L., 2013. From pollen count to pollen potency: the molecular era of aerobiology. *Eur. Respir. J.* 42, 898–900. <https://doi.org/10.1183/09031936.00096413>.

Cebriano, J., Portero de la Cruz, S., Barasona, M.J., et al., 2017. Airborne pollen in Córdoba City (Spain) and its implications for pollen allergy. *Aerobiologia* 33, 281–291. <https://doi.org/10.1007/s10453-016-9469-8>.

Ciani, F., Marchi, G., Dell'Olmo, L., et al., 2020. Contribution of land cover and wind to the airborne pollen recorded in a South European urban area. *Aerobiologia* 36, 325–340. <https://doi.org/10.1007/s10453-020-09634-y>.

CLC, 2012. Corine land cover. <https://land.copernicus.eu/pan-european/corine-land-cover>.

Cordero, J.M., Rojo, J., Gutiérrez-Bustillo, A.M., et al., 2021. Predicting the *Olea* pollen concentration with a machine learning algorithm ensemble. *Int. J. Biometeorol.* 65, 541–554. <https://doi.org/10.1007/s00484-020-02047-z>.

D'Amato, G., Cecchi, L., Bonini, S., et al., 2007. Allergic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy* 62, 976–990. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2007.01393.x>.

DellaValle, C.T., Triche, E.W., Leaderer, B.P., Bell, M.L., 2012. Effects of ambient pollen concentrations on frequency and severity of asthma symptoms among asthmatic children. *Epidemiology* 23 (1), 55–63. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e31823b66b8>.

Draxler, R.R., Rolph, G.D., 2013. HYSPLIT (HYbrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectory) Model Access via NOAA ARL READY Website. NOAA Air Resources Laboratory, Silver Spring, MD. <http://ready.arl.noaa.gov/HYSPLIT.php>.

Fernández, J., García-Más, F., Esteban, A., Miralles, A., 1995. Incidencia de granos de polen y polinosis en la ciudad de Elche. *Rev. Esp. Alergol. Immunol. Clin.* 13, 88–91.

Fernández, J., Flores, E., Varea, M., Soriano, V., Gonzalez, P., 2015. Evolution of the incidence of pollen grains and sensitivity to pollen in the city of Elche (Spain). *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* 33, 196–202. <https://doi.org/10.12932/AP0542.33.3.2015>.

Fernández-Rodríguez, S., Skjøth, C.A., Tormo-Molina, R., et al., 2014. Identification of potential sources of airborne *Olea* pollen in the southwest Iberian Peninsula. *Int. J. Biometeorol.* 58, 337–348. <https://doi.org/10.1007/s00484-012-0629-4>.

Fernández-Rodríguez, S., Maya-Manzano, J.M., Colín, A.M., et al., 2020. Understanding hourly patterns of *Olea* pollen concentrations as tool for the environmental impact assessment. *Sci. Total Environ.* 736, 139363. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139363>.

Florido, J.F., González Delgado, P., Saenz de San Pedro, B., et al., 1999. High levels of *Olea europaea* pollen and relation with clinical findings. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 119, 133–137. <https://doi.org/10.1159/000024188>.

Feo Brito, F., Mur Gimeno, P., Carnés, J., et al., 2011. *Olea europaea* pollen counts and aeroallergen levels predict clinical symptoms in patients allergic to olive pollen. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 106, 146–152. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2010.11.003>.

Gabaldón-Arguisuelas, A., 2016. Estudio aerobiológico del municipio de Las Rozas de Madrid y aplicación de resultados al control del polen alérgico [Tesis]. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/38617/1/T37555.pdf>.

Galán, C., Tormo, R., Cuevas, J., Infante, F., Domínguez, E., 1991. Theoretical daily variation patterns of airborne pollen in the southwest of Spain. *Grana* 30, 201–209. <https://doi.org/10.1080/00173139109427800>.

Galán, C., García-Mozo, H., Cariñanos, P., Alcázar, P., Domínguez-Vilches, E., 2001. The role of temperature in the onset of the *Olea europaea* L. pollen season in southwestern Spain. *Int. J. Biometeorol.* 45, 8–12. <https://doi.org/10.1007/s004840000081>.

Galán, C., Vázquez, L., García-Mozo, H., Domínguez, E., 2004. Forecasting olive (*Olea europaea* L.) crop yield based on pollen emission. *Field Crop. Res.* 86, 43–51. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(03\)00170-9](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00170-9).

Galán, C., Cariñanos, P., Alcázar, P., Domínguez, E., 2007. Spanish Aerobiology Network (REA): Management and Quality Manual. ISBN 978-84-690-6353-8.

Galán, C., Smith, M., Thibaudon, M., et al., 2014. Pollen monitoring: minimum requirements and reproducibility of analysis. *Aerobiologia* 30, 385–395. <https://doi.org/10.1007/s10453-014-9335-5>.

- Galán, C., Ariatti, A., Bonini, M., et al., 2017. Recommended terminology for aerobiological studies. *Aerobiologia* 33, 293–295. <https://doi.org/10.1007/s10453-017-9496-0>.
- Galera, M.D., Elvira-Rendueles, B., Moreno, J.M., et al., 2018. Analysis of airborne *Olea* pollen in cartagena (Spain). *Sci. Total Environ.* 622–623, 436–445. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.349>.
- Galindo, N., Yubero, E., Nicolás, J.F., et al., 2017. Regional and long-range transport of aerosols at Mt. Aitana, Southeastern Spain. *Sci. Total Environ.* 584–585, 723–730. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.108>.
- Galveias, A., Costa, A.R., Bortoli, D., Alpiñar-Jara, R., et al., 2021. Cupressaceae pollen in the city of Évora, south of Portugal: disruption of the Pollen during air transport facilitates allergen exposure. *Forests* 12 (1), 1–18. <https://doi.org/10.3390/f12010064>, 64.
- García-Mozo, H., Pérez-Badía, R., Fernández-González, F., et al., 2006. Airborne pollen sampling in Toledo, Central Spain. *Aerobiologia* 22, 55–66. <https://doi.org/10.1007/s10453-005-9015-6>.
- García-Mozo, H., Perez-Badía, R., Galán, C., 2008. Aerobiological and meteorological factors' influence on olive (*Olea europaea* L.) crop yield in Castilla-La Mancha (Central Spain). *Aerobiologia* 24, 13–18. <https://doi.org/10.1007/s10453-007-9075-x>.
- García-Mozo, H., Oteros, J.A., Galán, C., 2016. Impact of land cover changes and climate on the main airborne pollen types in Southern Spain. *Sci. Total Environ.* 548–549, 221–228. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.005>.
- Garrido, A., Fernández-González, M., Vázquez-Ruiz, R.A., Javier Rodríguez-Rajo, F., Aira, M.J., 2021. Reproductive biology of olive trees (*Arbequina* cultivar) at the northern limit of their distribution areas. *Forests* 12 (2), 1–16. <https://doi.org/10.3390/f12020204>, 204.
- Giorgi, F., Lionello, P., 2008. Climate change projections for the Mediterranean region. *Global Planet. Change* 63, 90–104. <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2007.09.005>.
- Gioulekas, D., Papakosta, D., Damialis, A., et al., 2004. Allergenic pollen records (15 years) and sensitization in patients with respiratory allergy in Thessaloniki, Greece. *Allergy* 59, 174–184. <https://doi.org/10.1046/j.1398-9995.2003.00312.x>.
- González-Naharro, R., Quirós, E., Fernández-Rodríguez, S., Silva-Palacios, I., et al., 2019. Relationship of NDVI and oak (*Quercus*) pollen including a predictive model in the SW Mediterranean region. *Sci. Total Environ.* 676, 407–419. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.213>.
- Hernández-Ceballos, M.A., García-Mozo, H., Adame, J.A., et al., 2011. Synoptic and meteorological characterization of olive pollen transport in Córdoba province (south-western Spain). *Int. J. Biometeorol.* 55, 17–34. <https://doi.org/10.1007/s00484-010-0306-4>.
- Hernández-Ceballos, M.A., Soares, J., García-Mozo, H., et al., 2014. Analysis of atmospheric dispersion of olive pollen in southern Spain using SILAM and HYSPLIT models. *Aerobiologia* 30, 239–255. <https://doi.org/10.1007/s10453-013-9324-0>.
- Hernández-Ceballos, M.A., García-Mozo, H., Galán, C., 2015. Cluster analysis of intradiurnal holm oak pollen cycles at peri-urban and rural sampling sites in southwestern Spain. *Int. J. Biometeorol.* 59, 971–982. <https://doi.org/10.1007/s00484-014-0910-9>.
- Iglesias-Otero, M.A., Astray, G., Vara, A., et al., 2015. Forecasting *Olea* airborne pollen concentration by means of artificial intelligence. *Fresenius Environ. Bull.* 24 (12B), 4574–4580.
- International Olive Council, 2017. The olive tree. http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/76-the-olive-tree?lang=en_US. (Accessed 23 February 2021).
- Izquierdo, R., Belmonte, J., Ávila, A., et al., 2011. Source areas and long-range transport of pollen from continental land to Tenerife (Canary Islands). *Int. J. Biometeorol.* 55, 67–85. <https://doi.org/10.1007/s00484-010-0309-1>.
- Izquierdo, R., Alarcón, M., Periago, C., Belmonte, J., 2015. Is long range transport of pollen in the NW Mediterranean basin influenced by Northern Hemisphere teleconnection patterns? *Sci. Total Environ.* 532, 771–779. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.047>.
- Kiotseridis, H., Cilio, C.M., Bjermer, L., et al., 2013. Grass pollen allergy in children and adolescents-symptoms, health related quality of life and the value of pollen prognosis. *Clin. Transl. Allergy* 3, 19. <https://doi.org/10.1186/2045-7022-3-19>.
- Lake, I.R., Jones, N.R., Agnew, M., et al., 2017. Climate change and future pollen allergy in Europe. *Environ. Health Perspect.* 125 (3), 385–391. <https://doi.org/10.1289/EHP173>.
- López-Orozco, R., Hernández-Ceballos, M.A., Galán, C., García-Mozo, H., 2020. Atmospheric pathways and distance range analysis of *Castanea* pollen transport in Southern Spain. *Forests* 11, 1092. <https://doi.org/10.3390/f11011092>.
- Loumou, A., Giourga, C., 2003. Olive groves: "The life and identity of the Mediterranean.". *Agric. Hum. Val.* 20, 87–95. <https://doi.org/10.1023/A:1022444005336>.
- Makra, L., Santa, T., Matyasovszky, I., et al., 2010. Airborne pollen in three European cities: detection of atmospheric circulation pathways by applying three-dimensional clustering of backward trajectories. *J. Geophys. Res. Atmos.* 115, D24220. <https://doi.org/10.1029/2010JD014743>.
- Makra, L., Matyasovszky, I., Tusnády, G., Wang, Y., et al., 2016. Biogeographical estimates of allergenic pollen transport over regional scales: common ragweed and Szeged, Hungary as a test case. *Agric. For. Meteorol.* 221, 94–110. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2016.02.006>.
- Martínez-Bracero, M., Alcázar, P., Velasco-Jimenez, M.-J., Galán, C., 2019. Effect of the Mediterranean crops in the airborne pollen spectrum. *Aerobiologia* 35, 647–657. <https://doi.org/10.1007/s10453-019-09604-z>.
- Maya-Manzano, J.M., Fernández-Rodríguez, S., Smith, M., et al., 2016. Airborne *Quercus* pollen in SW Spain: identifying favourable conditions for atmospheric transport and potential source areas. *Sci. Total Environ.* 571, 1037–1047. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.094>.
- Maya-Manzano, J.M., Skjøth, C.A., Smith, M., et al., 2021. Spatial and temporal variations in the distribution of birch trees and airborne *Betula* pollen in Ireland. *Agric. For. Meteorol.* 298–299, 108298. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2020.108298>.
- Millán, M., Salvador, R., Mantilla, E., Kallos, G., 1997. Photo-oxidant dynamics in the Mediterranean basin in summer: results from European research projects. *J. Geophys. Res.* 102, 8811–8823. <https://doi.org/10.1029/96JD03610>.
- Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación (MAPA), 2013. Aceite de oliva, la excelencia del oro líquido. https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_DYC/DYC_2013_130_38_47.pdf. (Accessed 3 March 2021).
- Monroy-Colina, A., Maya-Manzano, J.M., Tormo-Molina, R., et al., 2020. HYSPLIT as an environmental impact assessment tool to study the data discrepancies between *Olea europaea* airborne pollen records and its phenology in SW Spain. *Urban For. Urban Green.* 53, 126715. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2020.126715>.
- Moriando, M., Orlandini, S., Nuntii, P.D., Mandrioli, P., 2001. Effect of agrometeorological parameters on the phenology of pollen emission and production of olive trees (*Olea europaea* L.). *Aerobiologia* 17, 225–232. <https://doi.org/10.1023/A:1011893411266>.
- Moriondo, M., Trombi, G., Ferrise, R., et al., 2013. Olive trees as bio-indicators of climate evolution in the Mediterranean Basin. *Global Ecol. Biogeogr.* 22, 818–833. <https://doi.org/10.1111/geb.12061>.
- Muzalyova, A., Brunner, J.O., Traidl-Hoffmann, C., Damialis, A., 2021. Forecasting *Betula* and *Poaceae* airborne pollen concentrations on a 3-hourly resolution in Augsburg, Germany: toward automatically generated, real-time predictions. *Aerobiologia*. <https://doi.org/10.1007/s10453-021-09699-3> (in press).
- Negrini, A.C., Arobba, D., 1992. Allergenic pollens and pollinosis in Italy: recent advances. *Allergy* 47, 371–379. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1992.tb02074>.
- Orlandi, F., García-Mozo, H., Galán, C., Romano, B., et al., 2010. Olive flowering trends in a large Mediterranean area (Italy and Spain). *Int. J. Biometeorol.* 54, 151–163. <https://doi.org/10.1007/s00484-009-0264-x>.
- Orlandi, F., Oteros, J., Aguilera, F., et al., 2014. Design of a downscaling method to estimate continuous data from discrete pollen monitoring in Tunisia. *Environ. Sci.: Process. Impacts* 16, 1716–1725. <https://doi.org/10.1039/C4EM00153B>.
- Oteros, J., García-Mozo, H., Hervás-Martínez, C., Galán, C., 2013. Year clustering analysis for modelling olive flowering phenology. *Int. J. Biometeorol.* 57 (4), 545–555. <https://doi.org/10.1007/s00484-012-0581-3>.
- Paz, S., 2010. La olivicultura valenciana en el s. XXI. La semana Vitivinícola. Repositorio digital del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. <http://hdl.handle.net/20.500.11939/6779>. (Accessed 26 February 2021), 3310, 948–952.
- Pereira, J.S.R., Ribeiro, H., Abreu, I., 2020. Spatial and temporal environmental pollen analysis of footwear worn in the area of Barcelos, North-West Portugal, in a forensic context. *Aerobiologia* 36 (1), 89–94. <https://doi.org/10.1007/s10453-019-09598-8>.
- Pérez-Badía, R., Vaquero, C., Sardinero, S., et al., 2010. Intra-diurnal variations of allergenic tree pollen in the atmosphere of Toledo (Central Spain). *Ann. Agric. Environ. Med.* 17, 269–275.
- Pérez-Badía, R., Rapp, A., Vaquero, C., Fernández-González, F., 2011. Aerobiological study in east-central Iberian Peninsula: pollen diversity and dynamics for major taxa. *Ann. Agric. Environ. Med.* 18 (1), 99–111.
- Picornell, A., Recio, M., Ruiz-Mata, R., et al., 2020. Medium- and long-range transport events of *Alnus* pollen in western Mediterranean. *Int. J. Biometeorol.* 64 (10), 1637–1647. <https://doi.org/10.1007/s00484-020-01944-7>.
- Plaza, M.P., Alcázar, P., Galán, C., 2016. Correlation between airborne *Olea europaea* pollen concentrations and levels of the major allergen Ole e 1 in Córdoba, Spain, 2012–2014. *Int. J. Biometeorol.* 60, 1841–1847. <https://doi.org/10.1007/s00484-016-1171-6>.
- Recio, M., Cabezedo, B., Trigo, M.M., Toro, F.J., 1996. *Olea europaea* pollen in the atmosphere of Málaga (Spain) and its relationship with meteorological parameters. *Grana* 35, 308–313. <https://doi.org/10.1080/00171319609429086>.
- Ribeiro, H., Cunha, M., Abreu, I., 2005. Airborne pollen of *Olea* in five regions of Portugal. *Ann. Agric. Environ. Med.* 12, 317–320.
- Ribeiro, H., Santos, L., Abreu, I., Cunha, M., 2006. Influence of meteorological parameters on *Olea* flowering date and airborne pollen concentration in four regions of Portugal. *Grana* 45, 115–121. <https://doi.org/10.1080/00171310500520610>.
- Rojo, J., Pérez-Badía, R., 2015. Spatiotemporal analysis of olive flowering using geostatistical techniques. *Sci. Total Environ.* 505, 860–869. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.10.022>.
- Rojo, J., Oteros, J., Pérez-Badía, R., Cervigón, P., et al., 2019. Near-ground effect of height on pollen exposure. *Environ. Res.* 160–169. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.04.027>.
- Ruiz-Valenzuela, L., Aguilera, F., 2018. Trends in airborne pollen and pollen-season-related features of anemophilous species in Jaen (south Spain): a 23-year perspective. *Atmos. Environ.* 180, 234–243. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.03.012>.
- Scevkova, J., Dusicka, J., Hrubisko, M., Micieta, K., 2015. Influence of airborne pollen counts and length of pollen season of selected allergenic plants on the concentration of sIgE antibodies on the population of Bratislava, Slovakia. *Ann. Agric. Environ. Med.* 22 (3), 451–455. <https://doi.org/10.5604/12321966.1167712>.
- Skjøth, C.A., Smith, M., Brandt, J., Emberlin, J., 2009. Are the birch trees in southern England a source of *Betula* pollen for north London? *Int. J. Biometeorol.* 53, 75–86. <https://doi.org/10.1007/s00484-008-0192-1>.
- Skjøth, C.A., Sommer, J., Brandt, J., et al., 2008. Copenhagen – a significant source of birch (*Betula*) pollen? *Int. J. Biometeorol.* 52, 453–462. <https://doi.org/10.1007/s00484-007-0139-y>.

- Smith, M., Skjoth, C.A., Myszkowska, D., et al., 2008. Long-range transport of *Ambrosia* pollen to Poland. *Agric. For. Meteorol.* 148, 1402–1411. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2008.04.005>.
- Sorrel, P., Mathis, M., 2016. Mid- to late-Holocene coastal vegetation patterns in Northern Levant (Tell Sukas, Syria): olive tree cultivation history and climatic change. *Holocene* 26, 858–873. <https://doi.org/10.1177/0959683615622555>.
- Ulbrich, U., Lionello, P., Berlušić, D., et al., 2012. Climate of the Mediterranean: synoptic patterns, temperature, precipitation, winds, and their extremes. In: Lionello, P. (Ed.), *The Climate of the Mediterranean Region, from the Past to the Future*. Elsevier, Dordrecht, pp. 301–346.
- Vázquez, L., Galán, C., Domínguez-Vilches, E., 2003. Influence of meteorological parameters on *Olea* pollen concentrations in Cordoba (South-western Spain). *Int. J. Biometeorol.* 48, 83–90. <https://doi.org/10.1007/s00484-003-0187-x>.
- Veriankaitė, L., Siljamo, P., Sofiev, M., Šaulienė, I., Kukkonen, J., 2010. Modelling analysis of source regions of long-range transported birch pollen that influences allergenic seasons in Lithuania. *Aerobiologia* 26 (1), 47–62. <https://doi.org/10.1007/s10453-009-9142-6>.
- von Wahl, P., Puls, K.E., 1989. The emission of mugwort pollen (*Artemisia vulgaris* L.) and its flight in the air. *Aerobiologia* 5, 55–63. <https://doi.org/10.1007/BF02446488>.
- Waisel, Y., Mienis, Z., Kosman, E., Geller-Bernstein, C., 2004. The partial contribution of specific airborne pollen to pollen induced allergy. *Aerobiologia* 20, 197–208. <https://doi.org/10.1007/s10453-004-1183-2>.
- Zemmer, F., Karaca, F., Ozkaragoz, F., 2012. Ragweed pollen observed in Turkey: detection of sources using back trajectory models. *Sci. Total Environ.* 430, 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.067>.
- Zhang, C.-J., Kim, D.-S., Jiang, C., Mahoney, J., et al., 2021. Hourly pollen dispersal of *Camelina sativa* (L.) Crantz under different weather conditions and mitigation of wind-blown pollen dispersal using maize barrier. *Ind. Crop. Prod.* 162, 113318. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113318>, 2021.
- Zuberbier, T., Lötvald, J., Simoons, S., Subramanian, S.V., Church, M.K., 2014. Economic burden of inadequate management of allergic diseases in the European Union: a GA (2) LEN review. *Allergy* 69, 1275–1279. <https://doi.org/10.1111/all.12470>.

