



HAL
open science

Atmospheric transfer and health impacts of particulate biogenic emissions

Abdoulaye Samaké

► **To cite this version:**

Abdoulaye Samaké. Atmospheric transfer and health impacts of particulate biogenic emissions. Earth Sciences. Université Grenoble Alpes, 2019. English. NNT : 2019GREAU025 . tel-02457417

HAL Id: tel-02457417

<https://theses.hal.science/tel-02457417>

Submitted on 28 Jan 2020

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

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

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE LA COMMUNAUTE UNIVERSITE GRENOBLE ALPES

Spécialité : Sciences de la Terre et de l'Univers et de
L'Environnement (CESTUE)

Arrêté ministériel : 25 mai 2016

Présentée par

Abdoulaye SAMAKE

Thèse dirigée par **Jean MARTINS**, Directeur de recherche
CNRS et
codirigée par **Gaëlle UZU**, Chargée de Recherche IRD
codirigée par **Jean-Luc JAFFREZO**, Directeur de recherche
CNRS

préparée au sein de **L'Institut des Géosciences de
l'Environnement**
dans **l'École Doctorale l'École Doctorale Terre, Univers,
Environnement**

Processus de transfert vers l'atmosphère et de l'impact sanitaire des émissions biogéniques particulaires

Thèse soutenue publiquement le « **18 Novembre 2019** »,
devant le jury composé de :

Mme Catherine LAROSE

Chargée de recherche CNRS - EEA/Ampère, Rapporteuse

M. Benjamin LOUBET

Directeur de recherche INRA - AgroParisTech, Rapporteur,

Mme Sandrine ANQUETIN

Directrice de recherche CNRS – IGE, Présidente

M. David GARON

Professeur à l'Université de Caen Normandie – ABTE, Examineur

M. Matthias BEEKMANN

Directeur de recherche CNRS – LISA, Examineur

Mme Nathalie POISSON

Ingénieure ADEME, Invitée

M. Jean MARTINS

Directeur de recherche CNRS-IGE, directeur de thèse

M. Jean-Luc JAFFREZO

Directeur de recherche CNRS-IGE, Co-encadrant de thèse

Mme Gaëlle UZU

Chargée de recherche IRD-IGE, Co-encadrante de thèse



“There is so much pollution in the air now that if it weren’t for our lungs there would be no place to put it all”

Robert Orben

Résumé :

Les particules en suspension dans l'air (notées « PM » pour « Particulate Matter ») sont aujourd'hui au cœur des préoccupations sociétales en raison de leur impact majeur sur la santé publique et leur forte participation au changement climatique. La matière organique (MO) représente généralement la première composante en masse des PM mais reste encore très mal appréhendée, en particulier la fraction organique d'origine biogénique primaire (PBOA). Des sucres primaires sont proposés comme des traceurs moléculaires pour étudier les processus de transport atmosphérique des PBOAs ainsi que pour estimer leur contribution à la masse totale des PM. Cependant, les connaissances sont encore très limitées sur leurs distributions spatiales et temporelles (i.e., cycles journaliers, saisonniers et annuels), leurs principales sources d'émissions, ou encore les facteurs environnementaux qui déterminent leurs concentrations atmosphériques. Par ailleurs, si la compréhension du potentiel oxydant (PO) —proxy de l'effet sanitaire des PM— inhérent à la composante chimique des aérosols a relativement bien avancé ces dernières années, la contribution de cette fraction PBOA reste est très mal connue. Contribuer à l'avancement des connaissances sur ces différents aspects constitue l'objectif de ce travail de thèse. D'un point de vue méthodologique, nos questions ont été abordées par une approche interdisciplinaire, qui a impliqué le couplage de l'exploitation statistique d'une large base de données unique avec le couplage de campagnes de terrain spécifiques et la mise en œuvre d'une stratégie expérimentale novatrice développée pour l'étude simultanée des caractéristiques chimiques et microbiologiques des échantillons collectés.

Dans une première partie basée sur l'exploitation d'une large base de données, nous avons montré que les PBOAs constituent une fraction très importante des PM en France, indépendamment de la typologie de l'environnement, contribuant en moyenne annuelle à 13 ± 4 % de la MO dans les PM₁₀. Nous avons montré une similitude entre les évolutions temporelles de concentrations et de ratios entre sucres primaires pour des sites localisés dans une même région géographique (jusqu'à une distance inter-sites d'environ 200 km). Ces observations indiquent que la source PBOA est très homogène spatialement sur des distances cohérentes avec celles de grands types d'écosystèmes. Cette observation a ensuite été validée par une expérimentation basée sur deux échantillonnages annuels de terrain qui nous a permis de démontrer (i) que les évolutions journalières des concentrations atmosphériques en sucres primaires sont déterminées par seulement quelques taxons microbiens atmosphériques, variables d'un point de vue régional ; et (ii) que ces taxons proviennent, respectivement, de la flore locale et régionale pour les sites d'étude qui sont directement influencés et non influencés par les activités agricoles. Enfin, dans le cadre d'étude de PO, nos résultats ont permis de démontrer (i) que tous les bioaérosols modèles testés possèdent un PO intrinsèque significatif comparable, pour certaines espèces, à celui de composants chimiques atmosphériques modèles connus pour leur forte réactivité redox ; et (ii) qu'ils sont capables d'influencer significativement le PO de PM chimiques modèles ou collectées en conditions réelles.

Ces travaux apportent un nouveau regard sur l'importance massique des PBOAs et des nouvelles connaissances sur les sources et processus dominants conduisant à leur introduction dans l'atmosphère, ainsi que l'influence des facteurs environnementaux sur ces processus. L'ensemble des résultats de ce travail plaide pour une prise en compte systématique des PBOAs dans les modèles de chimie atmosphérique pour une meilleure prédiction de la qualité de l'air.

Mots clés : Sucres primaires, aérosols organiques biogéniques primaires, sources, communautés microbiennes atmosphériques, potentiel oxydant, metabarcoding.

Abstracts

Airborne particles (called « PM » for Particulate Matter") are nowadays at the core of societal concerns because of their major impact on public health and their strong participation in climate change. Organic matter (OM) generally represents the first mass component of PM but it is still poorly understood, in particular the organic fraction from primary biogenic origin (PBOA). Some specific primary sugars are proposed as molecular tracers to study the atmospheric transport processes of PBOAs as well as to estimate their contribution to the total mass of PM. However, knowledge is still very limited about their spatial and temporal distributions (i.e., daily, seasonal and annual cycles), their main emission sources, or the environmental factors that drive their atmospheric concentrations. Moreover, while the understanding of the oxidative potential (OP) —a proxy of the health effect of PM— inherent in the chemical component of aerosols has progressed quite well in recent years, the contribution of this PBOA fraction remains poorly understood. Contributing to the improvement of our understanding about these different aspects constitutes the objective of this doctoral work. From a methodological point of view, our questions were addressed by using an interdisciplinary approach, which involved combining the statistical exploitation of a large database and, the coupling of specific field campaigns with the implementation of an innovative experimental strategy developed for the simultaneous study of the chemical and microbiological characteristics of the collected samples.

In a first part based on the exploitation of a large and unique database, we showed that PBOAs constitute a very important fraction of PM in France, regardless of the typology of the environment, contributing on average to $13 \pm 4\%$ of the annual MO in PM_{10} . We observed a synchronous temporal trend in both concentrations and ratios between primary sugars species for sites located in a same geographical region (up to an inter-site distance of about 200 km). These observations indicate that the PBOA source is spatially very homogeneous over distances consistent with those of large ecosystem types. This observation was then validated by an experimental approach based on two annual field sampling campaigns that allowed us to demonstrate (i) that daily changes in atmospheric concentrations of primary sugars are driven by only a few regionally variable atmospheric microbial taxa; and (ii) that these taxa come from local and regional flora for study sites that are directly influenced or are not by agricultural activities, respectively. Finally, in the framework of an OP study, our results demonstrated (i) that all the tested model bioaerosols have significant intrinsic OP, which are for some species of the same levels as what of model atmospheric chemical components known for their high redox reactivity; and (ii) that they can significantly influence the OP of model chemical PM or of PM sampled under real ambient conditions.

This work provides a new vision of the mass importance of PBOAs and brings new insights into the dominant sources and processes leading to their introduction into the atmosphere, as well as into the influence of major environmental factors on these processes. Altogether these results argue for a systematic consideration of PBOAs in atmospheric chemistry models for better prediction of air quality.

Keywords: Primary sugars, primary biogenic organic aerosols, sources, airborne microbial communities, oxidative potential, metabarcoding.

Remerciements

C'est donc pour marquer l'aboutissement de mes trois années de thèse que je me lance dans l'une des tâches les plus ardues, la difficulté de remercier tout le monde car c'est grâce à l'aide de nombreuses personnes que j'ai pu mener cette thèse à son terme. Ainsi pour commencer, mes remerciements vont à tous ceux qui ont (in)directement contribué à la réalisation de ce projet de thèse interdisciplinaire. En effet, le succès de ce travail repose sur des collaborations enrichissantes menées avec plusieurs équipes de recherche en (géo)chimie atmosphérique et en biologie moléculaire et écologie.

En premier lieu, je souhaite adresser mes remerciements à l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse. Je remercie donc Mr Benjamin Loubet, Mme Catherine Larose, Mr Matthias Beekmann, Mr David Garon et Mme Sandrine Anquetin pour l'intérêt qu'ils ont accordé aux travaux développés dans le cadre de cette thèse en acceptant d'examiner mon manuscrit. Un grand merci également à Mme Nathalie Poisson pour sa participation à mon jury de thèse.

Je tiens à remercier ensuite Jean Martins, G  lle Uzu et Jean-Luc Jaffrezo, mes directeurs de thèse, qui ont su être complémentaires tout au long de ma thèse et ainsi m'apporter des conseils pour construire cette étude largement interdisciplinaire. Vous m'avez fait confiance en m'accordant une certaine liberté dans mes différents travaux et, j'ai beaucoup appris à vos côtés, alors encore merci à vous trois. Un merci tout particulier à Jean-Luc et Jean pour leur grande disponibilité, leur écoute, leurs conseils toujours judicieux et précieux au quotidien.

Je souhaite ensuite remercier les membres de mon comité de thèse dont Aurélien Dommergue, Pierre Taberlet et Aurélie Bonin. Un grand merci pour avoir assuré le suivi de cette thèse au cours de chacun des comités de thèse. Nos différentes discussions ont été précieuses pour enrichir les objectifs scientifiques de cette thèse ainsi que pour orienter les campagnes d'échantillonnage spécifiques à cette thèse. Comme mentionné ci-dessus, ce travail m  n   avec plusieurs chercheurs. Ici, je voudrais adresser un merci tout particulier à Aurélie Bonin pour le temps précieux qu'elle a consacré aux analyses bioinformatiques des données de metabarcoding. Tu as toujours été très réactive pour répondre à mes questions et tes réponses pertinentes sur l'exploitation des données de metabarcoding.

Evidemment, une thèse, bien qu'étant une période unique et relativement personnelle, ne peut se dérouler sans une bonne ambiance de travail et l'aide de nombreuses personnes. Je pense que tout l'IGE et particulier mes deux équipes Hydrimz et Chianti, m'ont permis de passer trois années dans une ambiance conviviale. Merci donc à tous permanents et les non permanents avec qui j'ai eu la chance d'interagir sur la science ou sur toute autre chose. Je remercierai tout particulièrement ceux qui font tourner les labos au quotidien : Armelle, Eva, Vicent, Coralie, Anthony, Claire et tous ceux que j'oublie qui se sont succédés au laboratoire. C'est grâce à ces personnes que les divers plateaux analytiques fonctionnent et que les campagnes se déroulent correctement. Un grand merci à eux!

Je tiens aussi à remercier toutes les personnes qui m'ont accompagné en début de thèse et qui sont parties vers de nouvelles aventures. Je pense notamment Erwan, Emilie, Aude, Fernando. Un grand

merci aux collègues de l'IGE, en particulier Samël (courage à toi pour ta dernière année de thèse) et Julie. Enfin, Merci également à mes co-bureaux Gabriella et Médéric. Un special thanks à Médéric pour le debrief des compétitions sportives (matchs de foot, tennis, basket) qui permet de décompresser et de bien commencer la journée.

Enfin, je ne peux finir ces remerciements sans avoir une pensée particulière pour tous les membres de ma famille, c'est peu de dire que vous m'avez trop manqué lors de ces années d'études. Merci pour votre amour et votre soutien au quotidien malgré la distance Bamako --> Grenoble.

Introduction générale.....	1
Chapitre 1 : Etat de l'art	7
1 Problématique globale de la pollution atmosphérique particulaire	7
2 Focus sur les aérosols organiques d'origine biogénique primaire.....	28
3 Méthodologies d'identification et quantification de sources d'aérosols:	35
4 Objectifs et mise en œuvre de la thèse	39
Chapitre 2 : Matériel et méthodes	59
1 Campagnes d'échantillonnage.....	59
2 Méthodologies d'analyse chimiques et microbiologiques.....	66
Chapitre 3 : Marqueurs moléculaires organiques et contributions des sources aux évolutions saisonnnières des PM_{2.5} sur cinq sites ruraux en France.....	89
Préambule.....	90
Article 1: Organic markers and OC source apportionment for seasonal variations of PM _{2.5} at 5 rural sites in France.....	92
Supplementary information:.....	109
Conclusion et perspectives du chapitre 3	115
Chapitre 4 : Les sucres primaires comme traceurs d'aérosols organiques biogéniques primaires sur 28 sites français : influence des facteurs environnementaux sur leurs dynamiques temporelles et spatiales en France	117
Préambule.....	118
Article 2: Polyols and glucose particulate species as tracers of primary biogenic organic aerosols at 28 French sites.....	120
Supplementary information:.....	139
Description of the Positive Matrix Factorization (PMF) analyses	142
Article 3: Arabitol, mannitol, and glucose as tracers of primary biogenic organic aerosol: the influence of environmental factors on ambient air concentrations and spatial distribution over France.	149
Préambule.....	150
Supplementary information.....	169
1 Section 1: supplementary illustrations	169
2 Section 2: Analysis of ambient particulate cellulose concentration	176
Chapitre 5 : Caractérisation de l'origine biogénique et identification des communautés microbiennes atmosphériques qui déterminent les évolutions temporelles et spatiales des concentrations atmosphériques en sucres primaires.....	178
Préambule.....	180
Part 1 (Article 4): High levels of Primary Biogenic Organic Aerosols in the atmosphere in summer are driven by only a few microorganisms from the leaves of surrounding plants.....	182
Abstract	184
Introduction	185
Results	186
Discussion	193
Limits and perspectives of our study.....	197
Material and methods	197
Supplementary Materials.....	202
Partie 2 : Répétabilité, tendances spatiales et origine biogénique des communautés microbiennes qui contrôlent les émissions sucres primaires particulaires vers l'atmosphère	216
1 Contexte	217
2 Analyses des données :.....	218
3 Comparaison des résultats des campagnes d'été 2017 et 2018 sur le site de l'OPE-ANDRA....	219

4	Comparaison de la composition des communautés microbiennes des aérosols sur 3 sites distincts	229
5	Conclusions et perspectives :	235
	Chapitre 6 : Contributions de particules biologiques atmosphériques au potentiel oxydatif global des aérosols.....	240
	Préambule.....	241
	Article 5: The unexpected role of bioaerosols in the Oxidative Potential of PM.....	243
	Supporting information	254
	Conclusions générales et perspectives	267
1	Base de données sur la spéciation chimique et la caractérisation des sources de PM.....	268
2	Caractérisation de l'origine biogénique et de l'empreinte microbiologique atmosphérique associées aux sucres primaires dans les PM ₁₀	270
3	Contribution des bioaérosols au potentiel oxydatif global des aérosols.....	271
	Tables des figures	275
	Tables des tableaux	281
	Tables des abréviations.....	283

Introduction générale

Les activités de l'Homme ont un impact indéniable sur son environnement naturel ainsi que sur l'évolution naturelle du climat sur Terre (Boucher, 2012; Carslaw et al., 2017; Fuzzi et al., 2015). Le développement des activités industrielles et agricoles, la multiplication des moyens de transport, l'explosion démographique, etc. ont entraîné, au cours du dernier siècle, un changement profond de notre environnement naturel, qui affecte l'ensemble de la zone critique de la Terre (interface lithosphère-atmosphère/hydrosphère) (Andreae, 2007; Carslaw et al., 2017; Mégie, 2001). Les impacts sont tels que la température moyenne de la Terre a augmenté au cours du XX^{ème} siècle de 0.6 ± 0.2 °C et celle de la France métropolitaine de 1°C ([Météo France](#)). Selon différents scénarios d'émission de gaz à effet de serre (ex., vapeur d'eau H₂O, dioxyde de carbone CO₂, ozone O₃, etc.), les modèles de climat, qui ont pour but de prédire l'évolution future du climat et ses conséquences à court et long terme, projettent pour 2100 une augmentation de la température de la Terre de +1.5°C (par rapport à la température moyenne de l'ère préindustrielle, soit autour des années 1850-1900) pour le plus optimiste des scénarios et jusqu'à +4°C pour le plus pessimiste (IPPC, 2014). Par ailleurs, la recrudescence des aléas climatiques (ex., tempête, épisodes de canicule, pluies et crues extrêmes, etc.) et les répercussions socio-économiques associées ont fait rentrer la problématique du changement climatique au cœur des débats sociétaux (Fuzzi et al., 2015; Thomalla et al., 2006; Wu et al., 2019).

Face à ces problèmes, des politiques de gestion de la qualité de l'air ont été mises en place afin de réduire l'impact des activités anthropiques sur le climat. Dans ce contexte, la 21^{ème} Conférence des Parties (COP21) qui réunissait 196 délégations (i.e., 195 États + l'Union Européenne), s'est déroulée du 30 novembre au 11 décembre 2015 à Paris. Cette conférence avait pour objectif de parapher le premier accord universel pour le climat. La COP21 a effectivement permis de trouver un accord international, dit « Accord de Paris », qui fixe comme objectif de limiter la hausse de la température moyenne de la Terre en-deçà de +2°C et de s'efforcer à limiter cette augmentation en dessous de +1.5 °C d'ici l'horizon 2100¹.

Ce changement climatique est principalement lié à la modification de la composition de l'atmosphère depuis le début de l'ère industrielle mais plus particulièrement et à un rythme plus rapide depuis les années 1950 (Andreae, 2007; Boucher, 2012, 2015; Carslaw et al., 2017; Fuzzi et al., 2015). Outre les gaz à effet de serre, des matières particulaires émises directement (i.e., aérosols primaires) par des sources naturelles ou anthropiques, ou encore formées *in situ* dans l'atmosphère par des processus physicochimiques (i.e., aérosols secondaires), sont également présentes dans l'atmosphère. Ces particules atmosphériques (PM pour Particulate matter en anglais) jouent un rôle central dans les problématiques environnementales, de par leur impact sur la qualité de l'air que nous respirons tous les jours et leur forte participation au changement climatique (Boucher, 2012, 2015; Fuzzi et al., 2015; McMichael, 2014). Sur ce dernier point, on retiendra que les PM affectent de façon significative le bilan radiatif terrestre par deux effets : de manière directe par l'absorption, la réflexion ou la diffusion du rayonnement solaire et tellurique; ou de manière indirecte en servant de noyaux de condensation des nuages (Carslaw et al., 2017; Coll, 2012; Fuzzi et al., 2015, Pöschl and Shiraiwa, 2015). C'est

¹ <https://www.gouvernement.fr/action/la-cop-21>

précisément l'impact des PM sur le changement climatique qui constitue aujourd'hui l'une des plus fortes incertitudes pour l'évaluation du forçage radiatif terrestre et des projections du climat futur (Carslaw et al., 2013; Coll, 2012; Forster et al., 2007; Fuzzi et al., 2015; Yttri et al., 2009).

Par ailleurs, en France, comme ailleurs partout dans le monde, la pollution atmosphérique particulaire est une préoccupation majeure de santé publique (WHO, 2016). De nombreuses études épidémiologiques et toxicologiques ont mis en évidence un lien causal significatif entre l'exposition aux PM et la survenue et/ou l'aggravation de troubles cardiovasculaires, de maladies respiratoires aiguës, ainsi que des maladies chroniques, induisant une réduction de l'espérance de vie (Kelly et al., 2012; Pope and Dockery, 2006; Steenhof et al., 2011). A titre d'exemple, au niveau national, l'agence nationale de santé publique (ANSP) estime que la pollution atmosphérique particulaire est responsable chaque année, en France métropolitaine, d'au moins 48 000 décès prématurés (Pascal et al., 2016). Selon l'ANSP, plus de 34 000 décès prématurés pourraient être évités chaque année (soit 7 % de la mortalité en France), correspondant à un gain moyen d'espérance de vie à 30 ans de 9 mois, si l'ensemble des communes de la France métropolitaine réussissait à atteindre les niveaux ambiants de PM observées dans les zones les moins polluées de la même classe d'urbanisation (Pascal et al., 2016). En termes d'impact économique, il est estimé que le coût de la pollution de l'air ambiant (extérieur et intérieur) s'établit entre 68 et 97 milliards d'euros par an pour la France, dont une très large part est associée aux impacts sanitaires². Il existe donc bien un véritable enjeu sociétal à améliorer notre compréhension des sources d'émission, des processus physicochimiques de (trans)formation, d'évolution temporelle et spatiale des aérosols dans l'atmosphère afin de réduire les fortes incertitudes associées à leurs impacts sur le changement climatique et aussi pour limiter leurs impacts sanitaires.

Les PM sont des éléments très hétérogènes, complexes, variables, issues d'une multitude de sources anthropiques et naturelles sur lesquelles l'information demeure aujourd'hui encore incomplète et/ou hautement incertaine (Bozzetti et al., 2016; Coll, 2012; Fuzzi et al., 2015). La composition chimique des PM comprend généralement un mélange de composés organiques et inorganiques (Fuzzi et al., 2006 ; Yttri et al., 2009). Si de nos jours, la spéciation chimique exhaustive ainsi que les sources des aérosols inorganiques sont bien documentées, la fraction organique demeure en revanche peu documentée. En particulier, sa composition détaillée, ses sources et processus d'émission, ainsi que les transformations physicochimiques qu'elle subit lors de son transport atmosphérique, sont beaucoup moins bien renseignés (Alfarra et al., 2007; Fortenberry et al., 2018).

Pour avancer dans la compréhension des sources associées à la matière organique particulaire (MO), des études menées depuis une vingtaine d'années se sont focalisées sur la MO d'origine anthropique et/ou formée secondairement dans l'atmosphère. Cependant, on sait maintenant qu'une fraction massique importante de la MO résulte aussi très probablement d'émissions directes par des sources spécifiques, avec en particulier une composante provenant de sources biogéniques (Bozzetti et al., 2016; Coz et al., 2010; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Jaenicke, 2005; Medeiros et al., 2006; Nirmalkar et al., 2018), selon des sources et processus qui ont été proposés mais qui restent encore insuffisamment renseignés. L'information relative à la masse totale des aérosols organiques d'origine

² http://www.senat.fr/commission/enquete/cout_economique_et_financier_de_la_pollution_de_lair.html

biogénique primaire (PBOA) est très limitée dans la littérature et les rares estimations à ce sujet sont aujourd'hui encore hautement incertaines (Bozzetti et al., 2016; Després et al., 2012). Ce manque de connaissances est très certainement une des raisons majeures de la sous-estimation des concentrations totales des PM par les modèles globaux de chimie-transport (Ciarelli et al., 2016).

De nos jours, des sucres primaires spécifiques (i.e., les polyols et saccharides primaires) sont proposés comme des traceurs moléculaires pour étudier les processus de transport atmosphérique ainsi que pour estimer la contribution des PBOAs à la masse totale des aérosols (Kang et al., 2018; Li et al., 2018; Srivastava et al., 2018; Weber et al., 2019; Zhu et al., 2015). Cependant, nous manquons cruellement de données sur leur répartition granulométrique et leur distribution spatiale (à toutes les échelles), pour toutes les résolutions temporelles (i.e., cycles journaliers, saisonniers et annuels). Ceci rend très limitées, encore aujourd'hui, nos connaissances sur la saisonnalité de ces molécules, leurs principales sources d'émissions, ou encore les facteurs environnementaux clés qui déterminent leurs concentrations atmosphériques (Bozzetti et al., 2016; Fu et al., 2012; Nirmalkar et al., 2018; Yan et al., 2019).

Dans ce contexte, il apparaît clairement nécessaire de mieux comprendre la dynamique des sucres primaires particuliers atmosphériques pour mieux appréhender les sources de PBOAs.

Ce travail de thèse s'inscrit pleinement dans cette problématique avec pour principaux objectifs de : (i) documenter les variations temporelles (cycles journaliers, saisonniers et annuels) et spatiales (échelles locales à nationales) de la concentration des sucres primaires en France, (ii) documenter les principales origines biogéniques des sucres primaires, les processus dominants par lesquels ils se retrouvent dans l'atmosphère et les conditions environnementales qui déterminent leurs niveaux de concentrations atmosphériques, (iii) établir un profil chimique robuste associé aux PBOAs et estimer leur masse en France. Ce travail vise également à préciser la contribution de particules organiques d'origine biogénique primaire au potentiel oxydant global (proxy de l'effet sanitaire des PM) des aérosols, une caractéristique quasiment jamais considérée jusqu'à présent.

Ce travail de thèse se caractérise par l'utilisation de deux approches qui impliquent dans une première phase l'exploitation statistique de l'une des plus grandes bases de données existantes sur la caractérisation chimique des sucres primaires particuliers ainsi que sur la quantification des sources d'émission de PM atmosphériques mesurées sur des sites d'étude de typologies diversifiées et répartis sur l'ensemble du territoire national français (Chevrier, 2017; Favez et al., 2016; Weber et al., 2019). Dans une seconde phase, nos questions ont été abordées par le couplage de campagnes de terrain spécifiques à cette thèse avec la mise en œuvre d'une stratégie expérimentale novatrice développée pour l'étude simultanée des caractéristiques chimiques et microbiologiques des échantillons prélevés. Ce choix se justifie amplement par la complémentarité de ces deux approches. A ce titre, la base de données constitue une ressource essentielle qui permet de faire ressortir les tendances temporelles et spatiales associées aux sucres primaires particuliers (et PBOA), indispensables pour identifier la période la plus favorable pour leur étude et pour planifier les campagnes de terrain.

A notre connaissance, cette étude est la première du genre. Elle apporte un nouveau regard sur l'importance massive des PBOAs et de futures connaissances originales permettant de progresser dans leur compréhension. Ainsi, ce manuscrit de thèse est composé de six chapitres qui sont structurés comme suit :

- Le premier chapitre présente une synthèse des généralités sur les aérosols avec un focus sur l'état de l'art actuel sur les sucres primaires et les PBOAs. Afin de limiter les redondances, la synthèse bibliographique proposée sur les PBOAs est non exhaustive dans ce chapitre et une synthèse plus complète des connaissances actuelles sur les PBOAs et les sucres primaires est abordée dans les chapitres 3 et 4 dédiés de la thèse. Les objectifs et les stratégies retenus pour ce travail y sont également présentés plus en détail à la fin de ce chapitre.
- Le deuxième chapitre est consacré aux méthodologies utilisées. Il s'attache à décrire l'ensemble des jeux de données (spéciation chimique et sources des aérosols) explorés au cours de ce travail et les analyses statistiques des conditions météorologiques afin d'identifier les périodes les plus favorables pour caractériser les origines biogéniques des sucres primaires. Ce chapitre décrit succinctement les campagnes d'échantillonnage spécifiques à ce travail et réalisées lors de mes deux premières années de thèse. Les différentes approches analytiques (chimie, biologie moléculaire, etc.) déployées pour atteindre nos objectifs sont aussi présentées dans cette partie. Les méthodologies analytiques spécifiquement développées et ou/optimisées dans le cadre ce travail de thèse y sont également présentées en détails.
- Le troisième chapitre porte sur les résultats d'un article publié, qui fournit des tendances générales des évolutions temporelle et spatiale de différentes sources (primaires et secondaires) influençant la concentration de la MO totale mesurée simultanément sur cinq sites ruraux. Ce chapitre présente un premier aperçu des variabilités mensuelles de la concentration atmosphérique moyenne en polyols majoritaires (i.e., arabitol et mannitol) ainsi que leur contribution à la masse totale de la fraction organique particulaire contenue dans les PM_{2.5} (i.e., particules dont le diamètre aérodynamique est inférieur à 2.5 µm).
- Ensuite le quatrième chapitre présente les résultats de deux articles publiés. La première partie de ce chapitre traite de la distribution granulométrique des sucres primaires entre les différentes fractions des aérosols réglementés (PM_{2.5} et PM₁₀), de la variabilité saisonnière et la contribution des sucres primaires à la MO mesurée sur 28 sites d'étude répartis dans diverses zones climatiques typiques en France. Cette partie évalue également la masse des PBOAs en France et établit un profil chimique robuste associé aux PBOAs. La seconde partie de ce chapitre porte sur les processus conduisant à l'introduction dans l'atmosphère des particules organiques d'origine biogénique primaire ainsi que les facteurs environnementaux qui déterminent leur niveau atmosphérique.
- Un cinquième chapitre qui porte sur la caractérisation des communautés microbiennes atmosphériques associées aux évolutions temporelles des concentrations atmosphériques en sucres primaires et de leurs origines biogéniques. Les résultats y sont structurés comme suit :
 - (i) Un premier article soumis qui caractérise à la fois les communautés microbiennes dans l'air à l'origine des sucres primaires contenus dans les PM₁₀ mesurées sur un site rural et identifie les sources biogéniques de ces sucres primaires.

- (ii) Une deuxième partie qui évalue la robustesse et la reproductibilité interannuelle des résultats obtenus en (i). Cette deuxième partie étudie également la variabilité spatiale des communautés microbiennes associées aux sucres primaires dans les PM_{10} prélevées sur trois sites d'études répartis dans 3 régions géographiques distinctes en France.
- Enfin, le chapitre 6 porte sur les résultats d'un article publié traitant de la contribution des particules organiques d'origine biogénique primaire aux impacts sanitaires des PM évalués via la mesure du potentiel oxydant par tests acellulaires.
- Pour terminer, la conclusion générale abordera les résultats marquants qui se dégagent de l'ensemble des chapitres de résultats et ouvre sur les perspectives issues de ce travail de thèse.

Chapitre 1 : Etat de l'art	7
1 Problématique globale de la pollution atmosphérique particulaire	7
1.1 L'aérosol atmosphérique: généralités	8
1.1.1 Formation et distribution en taille	9
1.1.2 Réglementation sur la concentration des aérosols atmosphériques	12
1.2 Interactions entre PM et santé humaine.....	14
1.2.1 Effets sanitaires des PM	14
1.2.2 Mécanisme de toxicité des PM : le stress oxydatif.....	15
1.3 Interactions entre PM et environnement.....	18
1.3.1 Impacts sur le climat.....	18
1.3.2 Impacts sur l'environnement	20
1.4 Origines et sources des aérosols atmosphériques:	21
1.5 Composition chimique complexe de l'aérosol atmosphérique.....	24
2 Focus sur les aérosols organiques d'origine biogénique primaire	28
2.1 Généralités sur les aérosols organiques biogéniques primaires (PBOA)	28
2.2 Caractérisation des particules biologiques atmosphériques	30
2.2.1 Méthodes culturales.....	30
2.2.2 Méthodes non culturales.....	31
2.2.2.1 Approches biologiques et physiques	31
2.2.2.1.1 Coloration de protéines et d'acides nucléiques	31
2.2.2.1.2 Amplification et hybridation des acides nucléiques	31
2.2.2.1.3 Microscopie électronique	32
2.2.2.1.4 Méthode de détection des particules biologiques en temps réels	32
2.2.2.1.5 Approches chimiques : marqueurs moléculaires	33
2.3 Les sucres primaires comme traceur moléculaire spécifique des PBOAs.....	33
3 Méthodologies d'identification et quantification de sources d'aérosols:	35
3.1 Introduction des différentes approches.....	35
3.2 Approche PMF : principe général du modèle.....	36
4 Objectifs et mise en œuvre de la thèse	39
4.1 Motivations et objectifs de ce travail de thèse.....	39
4.2 Stratégie mise en place	40

Chapitre 1 : Etat de l'art

1 Problématique globale de la pollution atmosphérique particulaire

L'atmosphère est l'enveloppe de gaz et de particules qui entoure la terre sur une épaisseur moyenne de 600 km environ. Elle est constituée de cinq couches concentriques superposées, que l'on distingue notamment par des inversions du gradient vertical de température (Figure 1). Ces couches sont: la troposphère qui s'étend de la surface à environ 7-15 km suivant la latitude; puis la stratosphère qui s'étend du haut de la troposphère jusqu'à environ 50 km; la mésosphère, située au-dessus de la stratosphère, s'élève jusqu'à 85 km ; la thermosphère s'étend de 85 jusqu'à environ 600 km, et enfin l'exosphère/ou l'espace (Boucher, 2012, 2015).

La troposphère est la strate atmosphérique la plus basse et elle est le siège des principaux phénomènes météorologiques. C'est la strate de l'atmosphère où la convection joue un rôle important pour mélanger les masses d'air sur la verticale. La vie de L'Homme sur la terre dépend étroitement de cette couche qui concentre plus de 80% de la masse d'air totale atmosphérique et où se trouve concentré l'essentiel de l'oxygène moléculaire. La composition de l'air sec comprend principalement trois espèces gazeuses avec, au niveau de la mer, 78,11 % d'azote diatomique (N_2), 20,95 % d'oxygène diatomique (O_2) et 0,93 % d'argon (Ar). L'atmosphère terrestre contient également des gaz mineurs dont la proportion varie avec l'altitude, qui sont principalement l'eau sous forme de vapeur, le dioxyde de carbone, le dioxyde de soufre et l'ozone (Boucher, 2012, 2015).

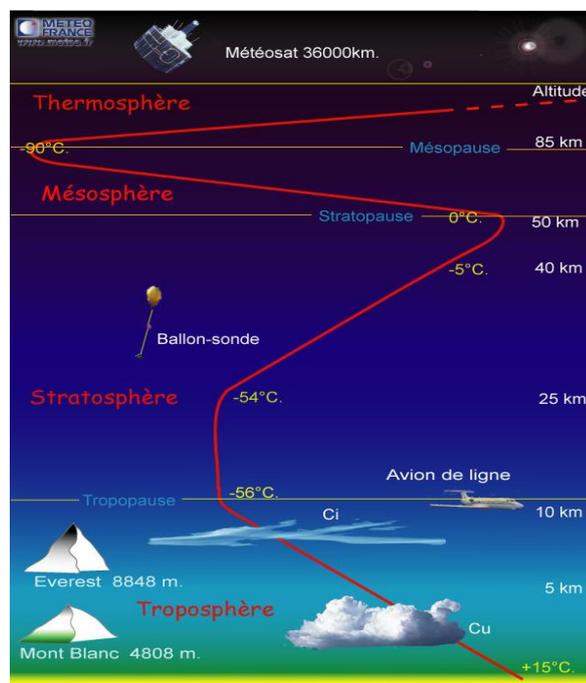


Figure 1: Les différentes couches et profil vertical de la température de l'atmosphère d'après météo France (<http://education.meteofrance.fr/lycee/animations/la-structure-verticale-de-latmosphere>).

Outre cette phase gazeuse, l'atmosphère terrestre est également le réceptacle d'une très grande diversité de matières condensées qui y sont présentes à la fois sous forme solide et/ou liquide (Laj and Sellegri, 2003). En effet, la troposphère, en contact direct avec le sol, est fortement influencée par les émissions d'origines naturelle ou anthropique, conditionnant la composition chimique des espèces traces de l'atmosphère et ainsi la qualité de l'air que nous respirons. Les émissions particulières sont actuellement au cœur des préoccupations scientifiques et sociétales en raison de leurs impacts sur la qualité de l'air et les conséquences sanitaires néfastes, mais aussi en raison de leurs impacts sur le climat et l'environnement (Fuzzi et al., 2015; Masclat and Cachier, 1998).

1.1 L'aérosol atmosphérique: généralités

Le terme « aérosol atmosphérique » est une expression générique qui désigne l'ensemble des particules solides et/ou liquides en suspension dans un gaz et qui présentent une vitesse de chute négligeable, à l'exception de tous les hydrométéores (tels que les cristaux de glace dans les nuages, les gouttes de pluie, les gouttelettes d'eau nuageuse, grêlons et flocons de neige) (Boucher, 2012; Laj and Sellegri, 2003). L'ensemble de ces particules présentes dans l'atmosphère est généralement appelé matière particulaire (PM pour Particulate Matter). Ce terme sera utilisé par la suite pour simplifier la dénomination des particules et aérosols atmosphériques.

Au sein de l'aérosol, les particules présentent des tailles et des aspects morphologiques très disparates aux échelles temporelle et spatiale, du fait notamment de la très grande diversité des sources d'émissions dont elles proviennent (Figure 2).

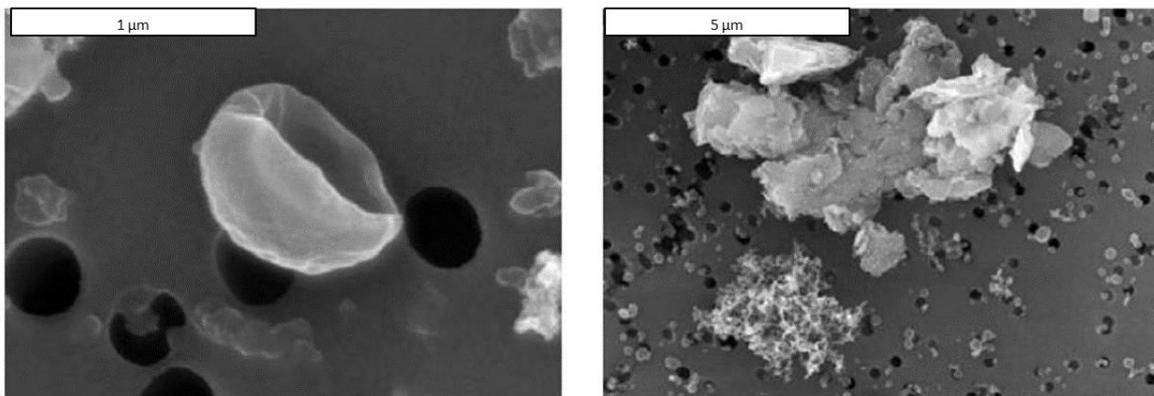


Figure 2: Images d'aérosols atmosphériques observés au microscope électronique: débris végétal (à gauche) et particule de carbone de suie à côté d'un agrégat minéral (à droite) (d'après Boucher, 2012). On remarque déjà une grande hétérogénéité de tailles, de formes et d'aspects parmi les aérosols atmosphériques.

Les PM se distinguent par leur distribution granulométrique, leur composition chimique, minérale ou carbonée, leur origine, naturelle ou anthropique, et par leur caractère primaire ou secondaire. Cette diversité extraordinaire permet aux PM de se présenter sous des entités très diverses qui, par conséquent, peuvent avoir des impacts très différents sur l'environnement, le climat, la qualité de l'air et la santé, ce qui fait des PM un des problèmes de pollution de l'air parmi les plus complexes et les plus difficiles à appréhender (Coll, 2012 ; Fuzzi et al., 2015).

1.1.1 Formation et distribution en taille

Le spectre de taille des particules est l'un des paramètres fondamentaux pour décrire les propriétés et caractéristiques de l'aérosol (Boucher, 2012; Fuzzi et al., 2006). En effet, il dépend des sources d'émissions, des mécanismes de formation, des transformations physicochimiques (ex. les processus de conversion de gaz en particules, photo-oxydation, croissance de leur taille, etc.) pouvant se produire lors du transport, et il détermine la vitesse de chute des particules atmosphériques (Boucher, 2015; Delmas et al., 2005). Ce paramètre gouverne également le pouvoir de pénétration dans l'appareil respiratoire humain et en conséquence les impacts sanitaires potentiels des PM (voir Figure 3).

On ne peut pas aisément attribuer un diamètre géométrique aux PM car elles ont des formes et des densités variées (Figure 2). En physique des aérosols, les théories sont généralement établies pour des particules idéalement sphériques (Boucher, 2015). Le terme de diamètre aérodynamique (D_p)³ est donc utilisé pour définir la taille des aérosols. Par convention, le diamètre aérodynamique est employé pour étudier la nature physique des particules et leur dépôt dans l'organisme humain (Liu, 2010; Smichowski and Gómez, 2015). Ce dernier permet de classer les aérosols en quatre populations de particules (appelées modes) par ordre croissant de taille (Figure 3):

- Le mode de **nucléation** (ou mode ultrafin) regroupe les particules formant des agrégats. Ce mode se caractérise par le nombre très élevé de particules et leur petite taille ($D_p < 10$ nm). Ces particules sont formées essentiellement par la condensation de vapeurs chaudes au cours de procédés de combustion à haute température ou par nucléation homogène lors de leur refroidissement (Buseck and Adachi, 2008). Ces particules possèdent un temps de vie très court (de quelques minutes à quelques heures) dans l'atmosphère et tendent très rapidement à évoluer vers des particules plus grandes en taille (Forbes and Garland, 2016).
- Le mode **Aitken**, souvent regroupé avec le mode précédent, comprend des particules issues de la coagulation et de la condensation des composés gazeux à faible tension de vapeur contenus dans le mode de nucléation (Boucher, 2012, 2015). Les particules dans cette catégorie présentent un diamètre aérodynamique compris entre 10 et 100 nm (Boucher, 2012, 2015).
- Le mode d'**accumulation** contient des particules de diamètre compris entre 0.1 et 2 μ m résultant des processus de grossissement soit par la coagulation des particules des modes précédents ou la condensation de vapeurs sur les particules existantes (Forbes and Garland, 2016; Smichowski and Gómez, 2015), ou encore à travers des cycles condensations/évaporation des nuages, qui induisent des processus d'oxydation en phase hétérogène (Ervens, 2015; Pöschl and Shiraiwa, 2015). Ce mode contribue de façon majeure à la surface d'échange et à la masse totale des particules de l'atmosphère (Boucher, 2012; Forbes and Garland, 2016)

³ Le diamètre aérodynamique correspond au diamètre d'une particule sphérique et de densité 1 Kg.m^{-3} , ayant la même vitesse sédimentation que la particule concernée.

Toujours liés l'un à l'autre dans l'atmosphère, le groupe formé par les modes Aitken et accumulation est couramment appelé le mode « des particules fines ».

- Le mode **grossier** contient des particules de plus de 2 μm . Les particules du mode grossier sont formées essentiellement lors de processus mécaniques d'émission tels que la remise en suspension des poussières du sol par action mécanique et érosion éolienne, l'abrasion des surfaces, les opérations de broyage dans l'industrie, la génération d'embruns marins, etc. (Forbes and Garland, 2016; Smichowski and Gómez, 2015). Ce mode se distingue par son importance prépondérante en masse et en volume pour l'ensemble du spectre granulométrique (Buseck and Adachi, 2008).

Le diamètre de l'aérosol est le paramètre clé gouvernant son temps de résidence dans l'atmosphère (Boucher, 2012; Laj and Sellegri, 2003). Les particules appartenant au mode Aitken ont un temps de résidence atmosphérique de quelques minutes à quelques heures. Celles appartenant au mode d'accumulation peuvent séjourner plusieurs jours dans l'atmosphère, impliquant qu'elles puissent être transportées sur de longues distances. Ces particules sont donc susceptibles d'impacter l'environnement et les populations à une échelle régionale voire même au-delà (Boucher, 2015; Laj and Sellegri, 2003). Ces aérosols sont éliminés de l'atmosphère par dépôts secs (sédimentation) ou par dépôts humides après incorporation dans les nuages (*wash out*) ou encore par lessivage lors des précipitations (*rain out*) (Delmas et al., 2005). Enfin, les particules du mode grossier présentent une durée de vie de l'ordre de quelques heures à quelques jours et elles sont principalement éliminées par sédimentation (dépôt sec) (Boucher, 2015).

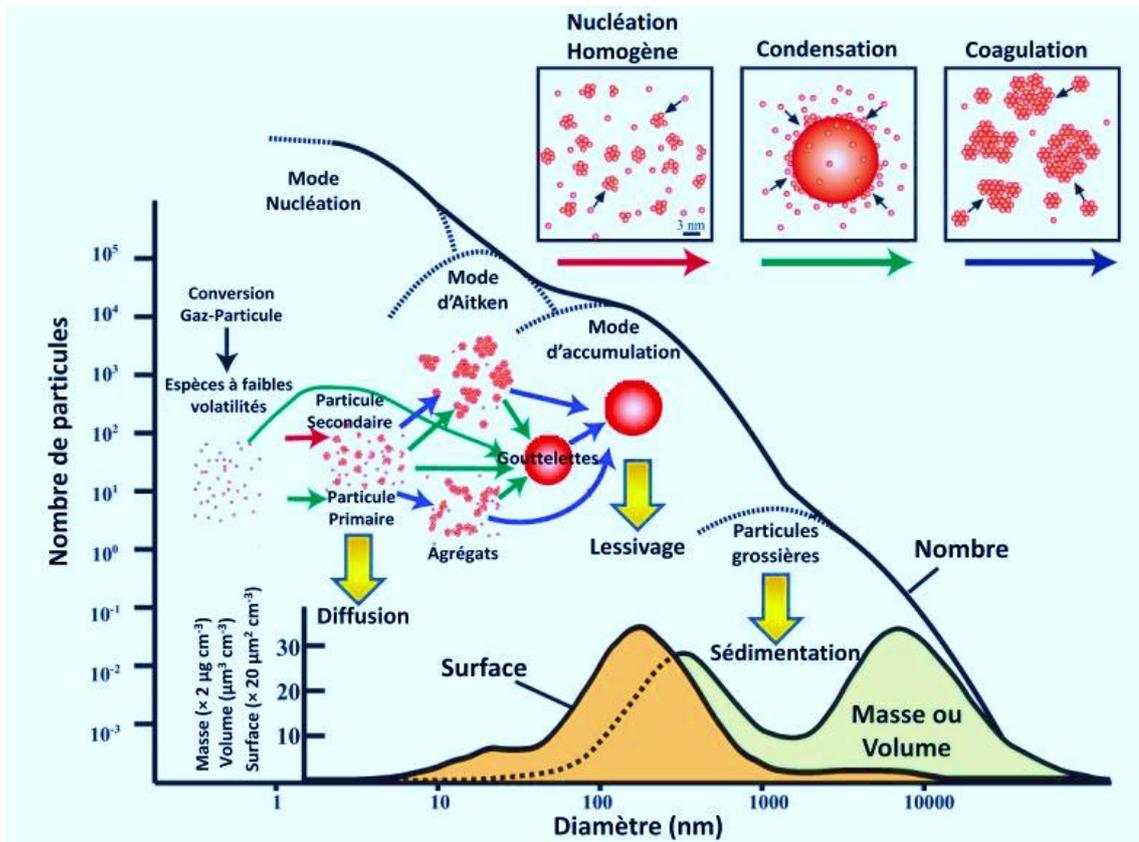


Figure 3: Représentation schématique de la distribution en taille de particules atmosphériques pour les différentes propriétés: masse, nombre, surface et volume et illustration de leurs processus de formation et d'élimination (d'après Buseck and Adachi, 2008).

Le diamètre de l'aérosol est également l'un des paramètres déterminants gouvernant le comportement des PM dans le système respiratoire ainsi que leur passage dans le système circulatoire (Buseck and Adachi, 2008; Lodovici and Bigagli, 2011; Mirowsky et al., 2013). Comme illustré dans la Figure 4, les particules dont le diamètre aérodynamique est supérieur à $10\ \mu\text{m}$ se déposent majoritairement dans les voies aériennes supérieures (Lodovici and Bigagli, 2011). Celles dont le D_p est inférieur à $10\ \mu\text{m}$ (i.e. les PM_{10} , qui regroupent toutes les particules ultrafines, fines et grossières) sont qualifiées de PM « thoraciques » car elles peuvent pénétrer au-delà du larynx et atteindre les voies aériennes inférieures (trachée, bronches principales, bronchioles, alvéoles pulmonaires) (Kelly et al., 2012; Mirowsky et al., 2013). Les $\text{PM}_{2.5}$ ($D_p < 2.5\ \mu\text{m}$) sont appelées « PM respirables » dans le sens où elles sont susceptibles de pénétrer plus profondément dans les poumons et atteindre les alvéoles pulmonaires (Kelly and Fussell, 2012, 2015). On distingue également dans le mode respirable les $\text{PM}_{0.1}$ qui, à cause de leur taille submicrométrique peuvent diffuser dans les voies intra-thoraciques jusqu'aux alvéoles (Ayres et al., 2008; Mirowsky et al., 2013) avec une efficacité de dépôt d'environ 50% (Donaldson et al., 2002), où leur temps de séjour sera important. Une fois dans les alvéoles, on estime que 80 % de ces particules ultrafines ne peuvent pas être éliminées (Oberdörster et al., 2005). De plus, une fraction importante des $\text{PM}_{0.1}$ est susceptible de traverser la membrane cellulaire et d'atteindre les circulations sanguines et lymphatiques (Donaldson et al., 1998; Kelly and Fussell, 2015).

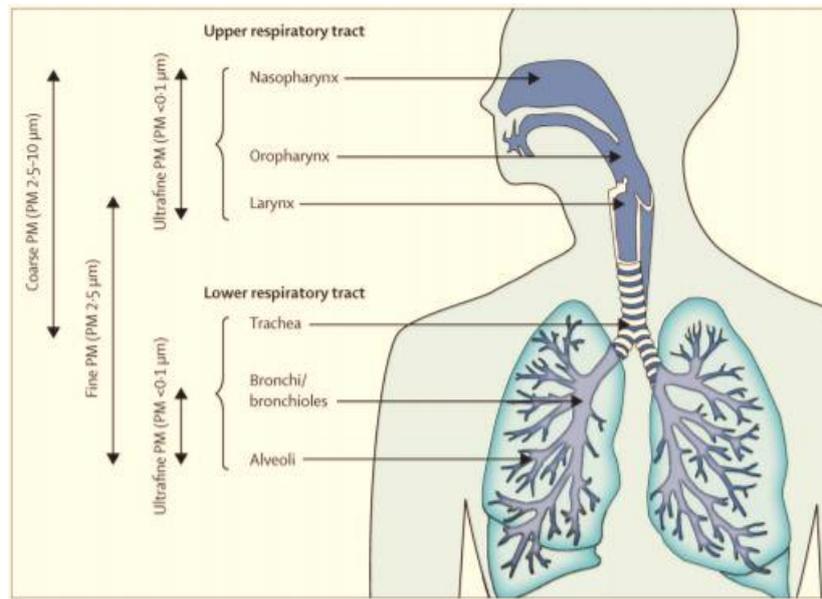


Figure 4: Niveau de déposition des différentes fractions de PM dans l'appareil respiratoire (adapté de Guarnieri and Balmes, 2014).

1.1.2 Réglementation sur la concentration des aérosols atmosphériques

Les réglementations sur les PM sont beaucoup plus récentes que celles appliquées aux espèces gazeuses en raison de la complexité de leur comportement atmosphérique. Par comparaison aux premiers polluants réglementés par les Nations Unies à cause de leur rôle majeur dans les pluies acides (SO_2 , Helsinki, 1985 – NO_x , Sofia, 1988), les premières législations européennes sur les PM ont vu le jour le 27 septembre 1996. La directive cadre (96/62/CE) établit les principaux axes d'une stratégie européenne commune au sein de l'Union, ayant pour but une amélioration de la qualité de l'air et une diminution des effets nocifs des polluants sur la santé. Il s'en suivit la directive fille du 22 avril 1999 (99/30/CE) visant à fixer les normes pour différents polluants de l'air dont les PM_{10} . En France, c'est en décembre 1996 que la loi sur l'Air et l'Utilisation Rationnelle de l'Energie (LAURE, loi N° 96-1236) introduit le premier cadre réglementaire relatif à la protection de l'air, qui reconnaît le droit qu' « a chaque citoyen de respirer un air qui ne nuit pas à sa santé ». Cette loi transpose en droit français la directive communautaire 96/62/CE. La LAURE rend obligatoire la surveillance de la qualité de l'air par l'état, la définition d'objectifs, et l'information continue du public. La surveillance porte sur l'ensemble du territoire national depuis le 1^{er} janvier 2000. Cette loi édicte également l'élaboration de Plans Régionaux de la Qualité de l'Air (qui vise à fixer des objectifs à court et long termes afin de prévenir ou de réduire la pollution), de Plans de Protection de l'Atmosphère visant à réduire les concentrations des polluants dans les agglomérations de plus de 250 000 habitants), de Plans de Déplacements Urbains (visant à l'organisation des transports et à développer le transport public, pour les agglomérations de plus de 100 000 habitants). Depuis les années 2000, des Associations Agréées de Surveillance de la Qualité de l'Air (AASQA) assurent la surveillance de la qualité de l'air et la diffusion continue de l'information au public.

En mai 2008, une nouvelle directive cadre est actée (2008/50/CE), relative à la qualité de l'air ambiant et un air pur en Europe. Cette directive a clarifié et simplifié la législation européenne en

fusionnant dans un seul acte la directive cadre de 1996 et ses trois directives filles (99/30/CE, 2000/69/CE et 2002/3/CE). De plus, elle fixe des valeurs limites pour les deux fractions de PM (PM₁₀ et PM_{2.5}) et des dispositions réglementaires telles que des méthodes et critères communs pour l'évaluation de la qualité de l'air, pour l'obtention des informations et leur mise à disposition au public, pour une coopération accrue entre les états membres de l'union européenne afin d'évaluer les pollutions transfrontalières.

Le décret 2010-1250 du 21 octobre 2010 transpose en droit français la directive communautaire 2008/50/CE.

Le Tableau 1 présente une description détaillée des normes, valeurs limites françaises ainsi que les seuils d'information et d'alerte pour les fractions de PM actuellement en vigueur. Il faut cependant souligner qu'à ce jour, il n'a pas été mis en évidence de seuil en-dessous duquel les PM seraient totalement inoffensives (WHO, 2016).

Tableau 1: Réglementation française concernant les concentrations de PM (<https://www.airparif.asso.fr>).

Particules	Type de seuil	Période considérée	Valeurs à respecter et dépassement autorisés
PM ₁₀	Objectif de qualité ¹	année civile	30 µg.m ⁻³
	Valeur limite ²	année civile	40 µg.m ⁻³
		24 heures	50 µg.m ⁻³ , à ne pas dépasser plus de 35 jours.an ⁻¹
	Seuil d'information & de recommandation ³	24 heures	30 µg.m ⁻³
PM _{2.5}	Seuil d'alerte ⁴	24 heures	30 µg.m ⁻³
	Valeur cible ⁵	année civile	20 µg.m ⁻³
	Valeur limite	année civile	25 µg.m ⁻³

¹Niveau à atteindre à long terme et à maintenir, sauf lorsque cela n'est pas réalisable par des mesures proportionnées, afin d'assurer une protection efficace de la santé humaine et de l'environnement dans son ensemble.

²Niveau à atteindre dans un délai donné et à ne pas dépasser, et fixé sur la base des connaissances scientifiques afin d'éviter, de prévenir ou de réduire les effets nocifs sur la santé humaine ou sur l'environnement dans son ensemble.

³Niveau au-delà duquel une exposition de courte durée présente un risque pour la santé humaine de groupes particulièrement sensibles au sein de la population et qui rend nécessaires l'émission d'informations immédiates et adéquates à destination de ces groupes et des recommandations pour réduire certaines émissions.

⁴Niveau au-delà duquel une exposition de courte durée présente un risque pour la santé de l'ensemble de la population ou de dégradation de l'environnement, justifiant l'intervention de mesures d'urgence.

⁵Niveau à atteindre, dans la mesure du possible, dans un délai donné, et fixé afin d'éviter, de prévenir ou de réduire les effets nocifs sur la santé humaine ou l'environnement dans son ensemble.

On remarque que les particules les plus fines (PM_{0.1}) n'entrent pas en ligne de compte pour ces seuils réglementaires. Ce sont, cependant, celles qui peuvent pénétrer jusque dans les poumons profonds (Figure 4). Cela n'est donc pas sans soulever des interrogations quant à la pertinence de la réglementation actuelle vis-à-vis des problèmes sanitaires. Le dernier rapport de l'ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) publié en juillet 2019 sur le sujet propose des avancées notamment en recommandant la prise en compte prioritaire des particules ultrafines, la spéciation carbonée globale (i.e., carbone suie, carbone organique) ou de poursuivre les efforts de recherche sur d'autres indicateurs prometteurs dont le potentiel oxydant (proxy de l'effet de l'effet sanitaire de PM, ceci est détaillé dans ce qui suit) dans les politiques publiques relatives à la qualité de l'air ambiant extérieur (ANSES, 2019).

1.2 Interactions entre PM et santé humaine

1.2.1 Effets sanitaires des PM

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), la pollution de l'air constitue le principal risque environnemental pour la santé dans le monde. Fin 2016, l'OMS estimait que 92% de la population mondiale vivait dans des lieux où les niveaux de qualité de l'air ne respectent pas les niveaux réglementaires que cette organisation propose (WHO, 2016). Ainsi l'exposition à la pollution de l'air ambiant extérieur et intérieur conduirait chaque année au décès prématuré d'environ 7 millions de personnes dans le monde (WHO, 2016). Dans la zone Europe, il est estimé qu'environ 600 000 décès par an sont inhérents à la pollution de l'air. Selon une étude réalisée en 2015 par l'OMS et l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE), le coût économique de ces 600 000 décès prématurés ainsi que des maladies provoquées par la pollution de l'air extérieur et intérieur dans la zone Europe atteignait, en 2010, le chiffre étourdissant de 1 600 milliards de dollars américains⁴. Au niveau national, Santé Publique France (ANSP) estime que la pollution de l'air aux PM est à l'origine chaque année, en France métropolitaine, d'au moins 48 000 décès prématurés par an, ce qui correspond à 9 % de la mortalité en France et à une perte d'espérance de vie à 30 ans pouvant dépasser 2 ans (Pascal et al., 2016).

L'impact de la pollution atmosphérique particulaire sur la santé fait l'objet de nombreuses études et publications scientifiques. Des études épidémiologiques et toxicologiques ont mis en évidence un lien causal entre l'exposition aiguë et chronique aux PM et le risque accru de morbidité et de mortalité (Brunekreef and Holgate, 2002; Kelly and Fussell, 2012; Pope, 2007; Pope and Dockery, 2006). Ces études pointent principalement vers des affections respiratoires mais aussi vers des insuffisances cardiaques, des cardiopathies ischémiques, des maladies cérébrovasculaires. D'autres études suggèrent également des liens possibles entre exposition aux PM et incidence de maladies vasculaires périphériques (MVP), arythmies /arrêts cardiaques et maladies thromboemboliques veineuses (MTE) (Kelly and Fussell, 2012).

En termes de maladies respiratoires, des études ont montré qu'une exposition aiguë à la pollution atmosphérique particulaire induit une exacerbation des symptômes de l'asthme et de bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO). Les expositions chroniques aux PM induisent quant à elles une diminution des fonctions respiratoires, un risque accru de cancer du poumon, des cas de bronchites chez les adultes/enfants, une augmentation des cas d'asthme ainsi que des allergies infantiles. D'autres études montrent un lien possible entre exposition des enfants aux PM et des effets potentiels sur le développement pulmonaire ainsi qu'une augmentation des BPCO à l'âge adulte (Kelly and Fussell, 2012; Kim et al., 2015; Martinelli et al., 2013; Peters and Pope, 2002).

Des études plus récentes s'intéressent également au probable lien entre la pollution particulaire et ses influences négatives sur la grossesse (pré-éclampsie, prématurité, malformations cardiaques, etc.)

⁴OMS/bureau régional de l'Europe : [http://www.euro.who.int/fr/media-centre/sections/press-releases/2015/04/air-pollution-costs-european-economies-us\\$-1.6-trillion-a-year-in-diseases-and-deaths.-new-who-study-says](http://www.euro.who.int/fr/media-centre/sections/press-releases/2015/04/air-pollution-costs-european-economies-us$-1.6-trillion-a-year-in-diseases-and-deaths.-new-who-study-says)

ou encore sur les effets neurologiques (migraines, déficiences cognitives légères, etc.) (Kim et al., 2015; Lavigne et al., 2016; Malmqvist et al., 2013).

La Figure 5 illustre de manière simplifiée les relations significatives et possibles entre exposition aux PM et pathologies observées.

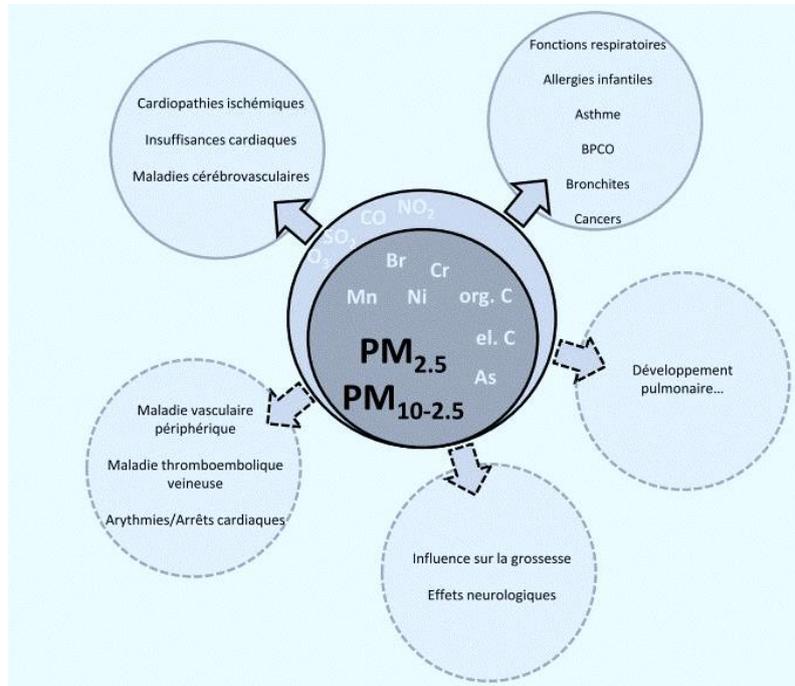


Figure 5: Représentation schématisée simplifiée de la relation entre exposition aux particules atmosphériques et pathologies. Relations fortes (lignes plaines) et associations possibles (pointillés) (adaptée de Martinelli et al., 2013).

1.2.2 Mécanisme de toxicité des PM : le stress oxydatif

Le stress oxydatif (Figure 6), caractérisé par une augmentation anormale de la quantité d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans le milieu pulmonaire est un des paramètres clés des pathologies observées chez les populations exposées à de fortes concentrations de PM (Ayes et al., 2008, 2008; Cho et al., 2005; Li et al., 2009). En effet, les PM peuvent porter directement des ERO sur leur surface et/ou induire indirectement leur formation dans le milieu pulmonaire via leur capacité à catalyser des réactions d'oxydo-réduction en présence de dioxygène (Calas et al., 2018; Fang et al., 2016; Kramer et al., 2016; Uzu et al., 2011). Les ERO sont des entités chimiques hautement réactives, car elles possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche électronique de valence, tels que le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical perhydroxyle (HO_2^{\cdot}), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), le radical peroxyde (ROO^{\cdot}) ou encore le radical alkoxy (RO^{\cdot}); mais on retrouve également des espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou encore l'oxygène singulet (1O_2) (Gehling et al., 2014; Hedayat et al., 2015, 2016; Kramer et al., 2016). Ainsi, comme illustré dans la Figure 6, les PM inhalées peuvent créer un déséquilibre entre le taux d'ERO et le système naturel de défense pulmonaire comportant des antioxydants (Baeza and Marano, 2007; Hedayat et al., 2015, 2015; Kelly and Mudway, 2003; Verma et al., 2014).

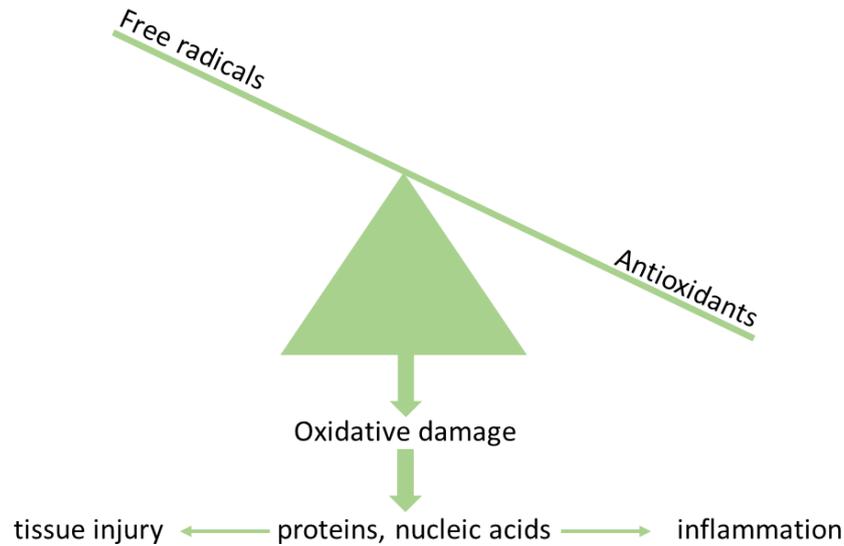


Figure 6 : Le stress oxydatif : débalancement entre production d'espèces réactives de l'oxygène et les antioxydants (Kelly, 2003).

Selon son intensité, le stress oxydatif entraîne une cascade d'évènements moléculaires et cellulaires qui ont des conséquences délétères multiples voire irréversibles comme résumés dans la Figure 7. Une faible production d'ERO induit l'activation des systèmes d'antioxydants cellulaires et les antioxydants produits permettent de restaurer l'homéostasie redox de la cellule (Baeza and Marano, 2007; Xiao et al., 2003). Si cette protection est insuffisante i.e., si $ERO > \text{antioxydants}$, l'expression de médiateurs de l'inflammation (ex., les cytokines, etc.) est induite. Une situation inflammatoire, aux conséquences cytotoxiques variées s'installe alors, avec des dommages oxydatifs au niveau des acides nucléiques, des protéines, des lipides, ou encore une perturbation de la prolifération et de la différenciation cellulaire. Pour une phase avancée où toutes les défenses sont débordées ($ERO \gg \text{antioxydants}$), les lésions cellulaires deviennent trop importantes, ce qui déclenche des processus de mort cellulaire par apoptose ou nécrose, les premières cellules touchées étant en général les macrophages de par leur capacité phagocytaire (Baeza and Marano, 2007; Xiao et al., 2003).

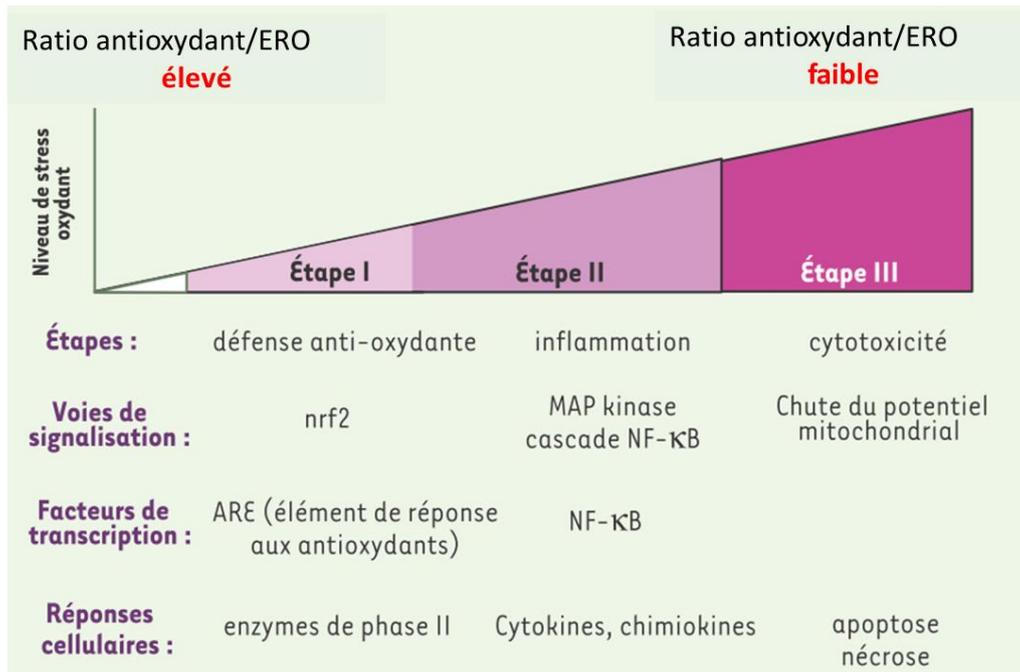


Figure 7 : Le modèle de stress oxydatif : les différentes étapes (adaptée de Xiao et al., 2003; Baeza and Marano, 2007). A noter que cette hiérarchisation de la réponse varie selon notre susceptibilité individuelle.

Compte tenu du rôle majeur joué par le stress oxydatif dans les mécanismes de toxicité des PM, la mesure du potentiel oxydant (PO), c'est à dire, la capacité intrinsèque des PM à induire la formation ou à générer des espèces réactives de l'oxygène dans un milieu biologique, est proposée comme une métrique alternative aux simples mesures de concentration massique des PM en vigueur pour la réglementation et, qui sert actuellement à lancer les alertes sanitaires (Baeza, 2017; Baeza and Marano, 2007; Fang et al., 2016). La mesure du PO intègre les paramètres clés de toxicité des échantillons de PM concernés, tels que leur composition chimique, leur concentration, leur surface spécifique et leur distribution en taille ou encore la biodisponibilité et les interactions entre les éléments chimiques (Baeza, 2017; Calas et al., 2017). Potentiellement, les effets cocktails sont aussi pris en compte par la mesure du PO.

Plusieurs approches biochimiques cellulaires ou acellulaires existent pour déterminer le PO des aérosols:

- D'un point de vue **cellulaire**, l'inflammation est caractérisée par la suractivation locale de cellules pro-inflammatoires (telles que les phagocytes, et principalement les neutrophiles et macrophages) qui provoquent une production accrue de biomarqueurs de l'inflammation, de protéines du stress oxydatif, et d'ERO (Breznan et al., 2015; Steenhof et al., 2011). Ainsi, plusieurs tests, qui consistent à mesurer les réponses cellulaires après leur exposition *in vitro* et/ou *in vivo* aux PM ont été développés afin de quantifier le PO des aérosols. Ce manuscrit n'a pas pour but de présenter de manière exhaustive l'ensemble des approches cellulaires pour évaluer la capacité intrinsèque des PM à induire la formation d'ERO ; le lecteur peut, à ce sujet se référer, aux travaux de

Calas. (2017), qui présentent une description exhaustive et une discussion critique des différents tests.

- De nombreux tests **acellulaires** existent également pour évaluer les propriétés oxydantes des PM. Ces tests reposent principalement sur la mesure de la déplétion d'antioxydants pulmonaires (ou de substituts), catalysée par les espèces redox portées par les PM. Contrairement aux approches cellulaires, les tests acellulaires permettent une mesure rapide et peu coûteuse du PO (Calas, 2017; Calas et al., 2017). Ils prennent alors tout leur sens en tant qu'indicateurs globaux du PO des PM sans aller jusqu'à une compréhension fine des mécanismes biologiques. Les tests acellulaires couramment utilisés dans la littérature actuelle incluent, entre autres les tests au dithiothréitol (DTT, un réducteur fort, assimilé à un substitut antioxydant), à l'acide ascorbique (AA, un antioxydant naturel), à la difluorescéine (DCFH, possédant des propriétés fluorescentes), avec la résonance paramagnétique électronique (RPE), etc. Plus de détails sur le principe des 3 essais (tests DTT, AA et DCFH) qui ont été utilisés dans le cadre de ce travail de thèse sont disponibles dans le chapitre méthodologique (Chapitre 2).

1.3 Interactions entre PM et environnement

1.3.1 Impacts sur le climat

Outre les risques avérés pour la santé, les PM impactent également le bilan radiatif terrestre et sont donc directement impliquées dans la problématique du changement climatique (Fuzzi et al., 2015; Masclet and Cachier, 1998; Pöschl and Shiraiwa, 2015; Stocker et al., 2014). L'impact des PM sur le climat s'exerce selon deux processus principaux:

- D'une part, en raison de leur capacité d'absorption et de diffusion, les PM peuvent modifier le rayonnement solaire incident et le rayonnement tellurique. Ceci constitue l'effet direct des aérosols. Les aérosols peuvent diffuser une partie du rayonnement solaire incident (de longueurs d'ondes comprises entre 0.1 et 3 μm) provoquant un refroidissement (forçage radiatif direct négatif) (Figure 8) alors que certaines particules, telles celles formées de carbone suie (Black Carbon, BC) —considéré par certains auteurs comme le deuxième acteur le plus important du changement climatique après le CO_2 (Bond et al., 2013; Ramanathan and Carmichael, 2008; Spracklen et al., 2011)— absorbent le rayonnement solaire incident provoquant un réchauffement de l'atmosphère (forçage radiatif direct positif) (Figure 8). Les PM peuvent également interagir avec le rayonnement tellurique (de longueurs d'ondes comprises entre 3 et 100 μm) en absorbant et en réémettant partiellement le rayonnement infrarouge émis par la Terre (forçage radiatif direct positif). Cependant, ce forçage est faible pour les particules les plus fines mais non négligeable pour les PM de diamètre supérieur à 2 μm . Il est estimé que le forçage radiatif direct des PM cause un refroidissement de $0.27 \pm 0.50 \text{ W.m}^{-2}$ (IPPC, 2013). De plus, en absorbant le rayonnement solaire, les PM entraînent des modifications des profils verticaux de température et d'humidité relative dont

dépendent la circulation atmosphérique et la formation des nuages (Ackerman et al., 2000).

- D'autre part, les PM peuvent modifier la microphysique des nuages par leurs propriétés physicochimiques et leur durée de vie, ceci constituant l'impact dit indirect. En effet, la formation des gouttelettes d'eau contenues dans les nuages a besoin d'un noyau de condensation (CCN, Cloud Condensation Nuclei) que constituent les PM (Delort et al., 2017; Morris and Sands, 2017; Spracklen et al., 2011; Sun and Ariya, 2006). Une augmentation de la quantité de PM dans l'atmosphère peut avoir pour conséquence l'augmentation du nombre de gouttelettes d'eau dans les nuages et donc de la nébulosité entraînant un refroidissement au niveau du sol.

Il est à noter cependant qu'il existe des incertitudes considérables sur l'évaluation de l'effet global des PM sur le climat du fait des effets antagonistes des particules constituant l'aérosol (Stevens and Boucher, 2012).

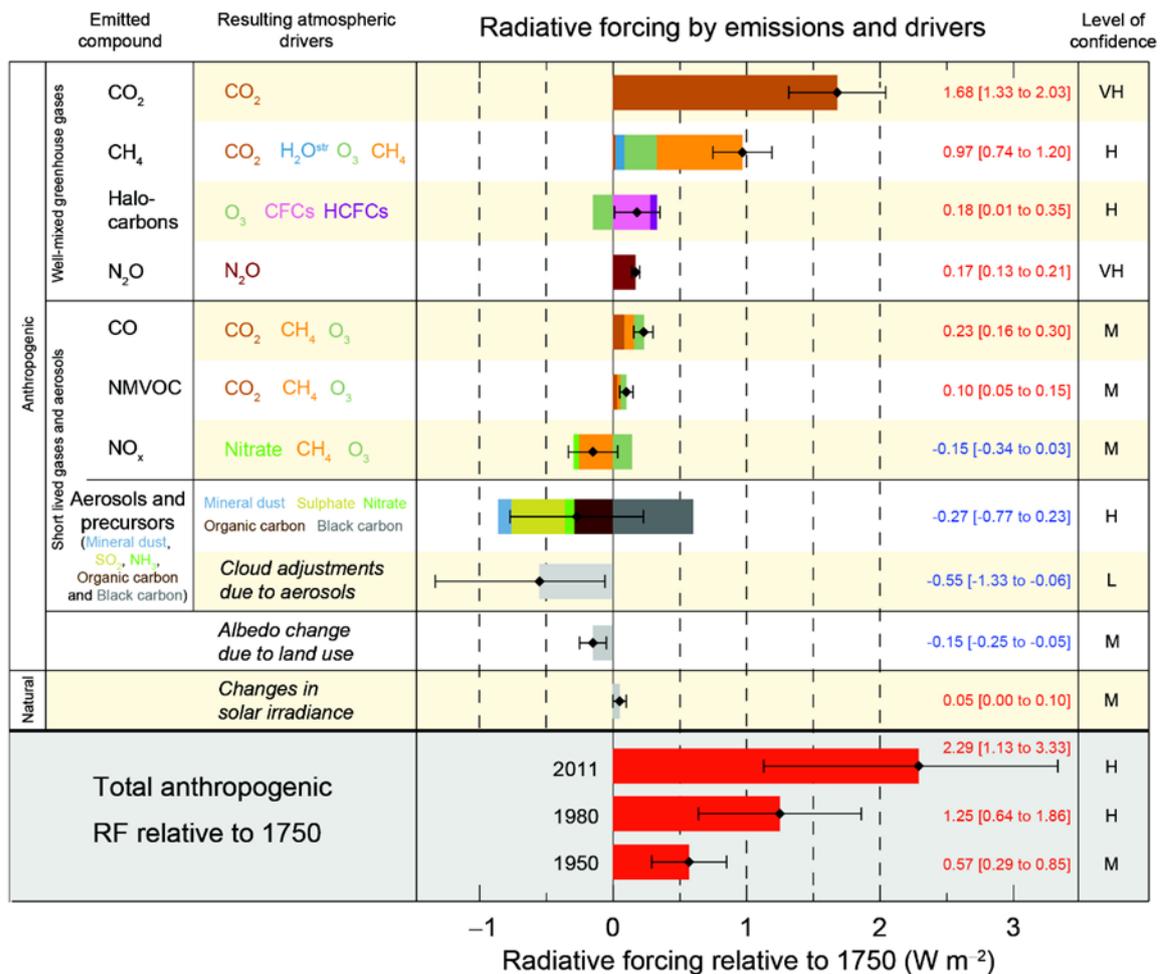


Figure 8: Estimation du forçage radiatif global de principaux constituants de l'atmosphère mesurés 2011 par rapport à 1750 (Rapport IPPC 2011). Chaque graphique en barre représente l'estimation moyenne du forçage. Les forçages positifs correspondent à un réchauffement du climat et ceux négatifs à un refroidissement. La dernière colonne à droite indique le niveau actuel de compréhension scientifique du forçage, qui est classé comme suivant : H (haut), VH (très haut), M (moyen) et L (bas).

1.3.2 Impacts sur l'environnement

Outre les effets climatiques régionaux et/ou globaux, les PM ont également des impacts environnementaux locaux préoccupants. En effet, les teneurs élevées de PM dans les atmosphères urbaines et péri-urbaines augmentent l'absorbance ou la diffusion des rayonnements provoquant ainsi des phénomènes de réduction de la visibilité. La présence de PM dans l'atmosphère augmente la quantité de rayonnement solaire diffus au détriment du rayonnement solaire direct, ce qui influence la photosynthèse (Villenave et al., 2012). De plus, les PM peuvent être à l'origine de la dégradation de patrimoines immobiliers et monuments historiques par l'action de leur composante acide sur le calcaire et le marbre (Laj and Sellegri, 2003; Villenave et al., 2012). Ces altérations et dégâts esthétiques entraînent des frais de nettoyage et d'entretien considérables. Il est cependant difficile d'estimer le coût réel des dégâts inhérents uniquement aux PM étant donné que celle-ci sont généralement associées à des nuisances par d'autres polluants: dioxyde de soufre (SO₂), pluie acide (Laj and Sellegri, 2003).

Enfin, les PM peuvent être absorbées par et/ou déposées sur les plantes, limitant là aussi leur exposition à la quantité de lumière nécessaire à la photosynthèse (Prajapati, 2012). Elles peuvent également se déposer sur le sol, et par conséquent porter atteinte à la biosphère, directement ou via la chaîne alimentaire qui est liée aux organismes pollués (Prajapati, 2012; Villenave et al., 2012).

La Figure 9 illustre de manière simplifiée l'interdépendance entre la composition des aérosols, leurs propriétés, leurs interactions et transformations atmosphériques, leurs effets sur le climat et la santé et leurs sources.

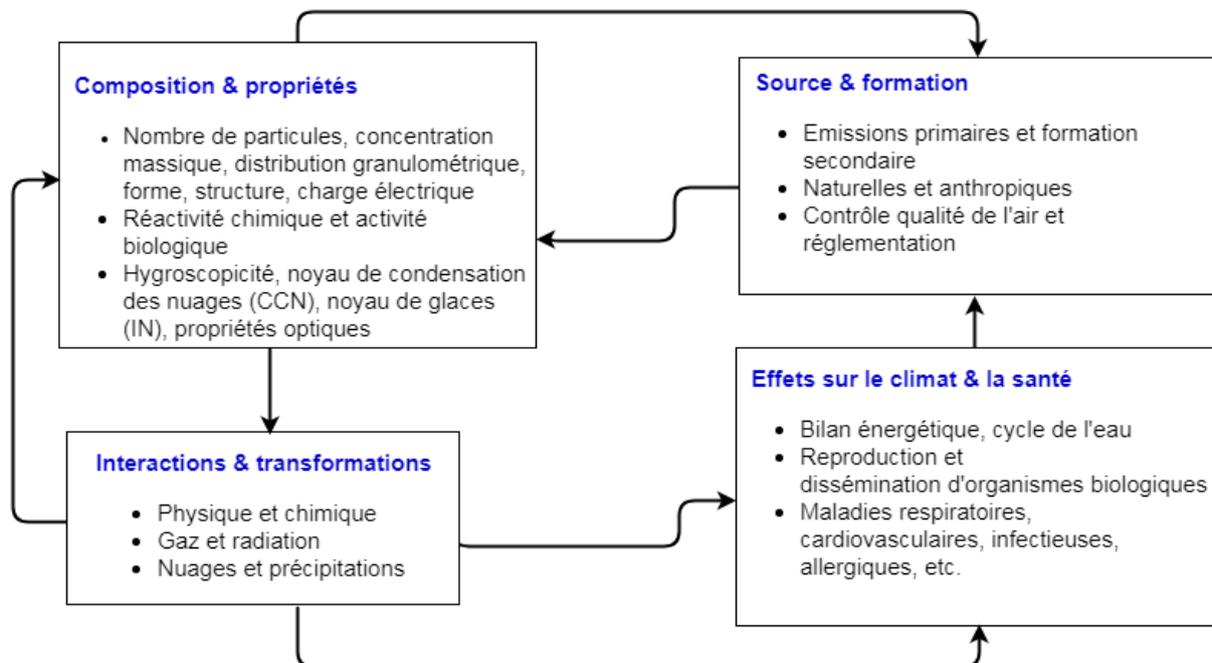


Figure 9: Schéma simplifié des interdépendances entre la composition des aérosols, leurs propriétés, leurs interactions et transformations atmosphériques, leurs effets sur le climat et la santé et leurs sources (d'après Pöschl, 2005).

1.4 Origines et sources des aérosols atmosphériques:

Les aérosols sont souvent judicieusement classés suivant leur mode de formation (Boucher, 2012; Calvo et al., 2013; Laj and Sellegrì, 2003; Masclat and Cachier, 1998). Ainsi, deux catégories peuvent être distinguées.

- Les **aérosols primaires** désignent les particules directement émises dans l'atmosphère sous forme solide ou liquide. Ils y sont introduits par différents mécanismes: par friction du vent sur la surface de la mer, des sols, des sables, des surfaces végétales, par des processus de combustion incomplète tels que les feux de forêts ou les unités d'incinération, par les éruptions volcaniques, par des processus biologiques conduisant à l'émission de microorganismes ou de matériaux végétaux (pollens, débris végétaux), par des activités industrielles telles que la construction de bâtiments ou encore par usure de matériaux de synthèse tels que les pneus et les revêtements des routes (Calvo et al., 2013; Laj and Sellegrì, 2003).
- Les **aérosols secondaires**, en revanche sont directement formés *in situ* dans l'atmosphère par des processus de conversion d'espèces gazeuses dont la pression de vapeur saturante est suffisamment basse pour que le composé soit également présent sous forme condensée. On parle alors de processus de conversion gaz-particules. En effet, certaines espèces atmosphériques gazeuses, appelées précurseurs d'aérosols, conduisent, à travers diverses transformations chimiques, telles que la photo-oxydation, à des composés de plus faibles pressions de vapeur qui condensent et forment la matière particulaire. Les principaux précurseurs gazeux sont les Composés Organiques Volatiles (COV), les oxydes de soufre et d'azote (SO_x, NO_x) et l'ammoniac (Buseck and Adachi, 2008; Seinfeld and Pandis, 2016).

Les sources des aérosols sont aussi multiples que variées et peuvent être classées selon leur caractère naturel ou anthropique. Un bilan massique des aérosols émis à l'échelle globale par les différentes sources est présenté dans le Tableau 2.

Les **émissions naturelles** ont quatre sources principales:

Source marine : Les aérosols de sels marins sont émis par l'écume des vagues par action éolienne et par l'éclatement de bulles d'air contenues dans l'écume à la surface de l'eau. Ces particules sont essentiellement constituées de chlorure (55 % en masse), de sodium (31 %), de sulfates (8 %), de magnésium (4 %), de calcium (1 %) et de potassium (1 %) (Pio et al., 1996; Seinfeld and Pandis, 2006). Ces aérosols couvrent des tailles allant typiquement de 100 nm à plusieurs dizaines de micromètres. Les particules les plus grosses retombent très rapidement à la surface et sont donc de moindre importance (Boucher, 2012).

Source terrigène : La friction du vent sur la surface terrestre peut arracher des particules de sol et les mettre en suspension dans l'atmosphère. Si la composition chimique relative de l'aérosol d'origine terrigène est amenée à varier d'une région à une autre, on retrouve néanmoins les mêmes composantes principales : les oxydes de métaux (fer, manganèse) et d'aluminosilicates (oxydes d'aluminium et de silicium). On trouve aussi des composés organiques provenant des débris de plantes et de l'humus.

Comme pour les aérosols de sels marins, les particules d'origine terrigène couvrent des tailles allant de 100 nm à plusieurs dizaines de μm (Boucher, 2012). Ces particules peuvent être transportées sur de longues distances. La principale source mondiale d'aérosols minéraux est le désert du Sahara, qui produit annuellement près de la moitié des aérosols d'origine terrigène (Calvo et al., 2013; Karanasiou et al., 2012).

Source volcanique: Les éruptions volcaniques sont une source naturelle significative d'aérosols primaires et secondaires. Elles injectent de grandes quantités de gaz et d'aérosols dans l'atmosphère. Ces aérosols sont constitués de métaux (Aluminium, Silice, Fer, Cuivre, Zinc,) et de sulfates provenant de la conversion du SO_2 gazeux, émis en abondance par les volcans (Andersson et al., 2013; Briottet, 2016; Coffey and Mankin, 2003). Contrairement aux autres sources, les panaches de fumées des éruptions volcaniques peuvent atteindre la haute atmosphère (stratosphère) et ainsi avoir des temps de résidence plus longs.

Source biogénique: Les aérosols d'origine biogénique sont essentiellement organiques (Boucher, 2015; Masclet and Cachier, 1998). Ces aérosols, émis par la biosphère, peuvent être des microorganismes (cellules bactériennes ou fongiques et leurs spores, des virus, des algues, etc.), des débris de végétaux et de pollens (Elbert et al., 2007; Jaenicke, 2005; Morris and Sands, 2017). On qualifie toutes ces particules d'aérosols biogéniques primaires (Boucher, 2012).

Les écosystèmes terrestres et marins sont aussi une source importante de précurseurs d'aérosols. Certaines espèces de phytoplancton produisent du diméthylsulfure (DMS), un composé gazeux qui s'oxyde dans l'atmosphère pour former des aérosols soufrés (Boucher, 2012; Fu et al., 2013). Les plantes émettent des COVs qui s'oxydent dans l'atmosphère et peuvent former des aérosols composés de matière organique. On parle dans ce cas d'aérosols biogéniques secondaires (Boucher, 2012, 2015).

Sources anthropiques : Les sources d'aérosols anthropiques sont très variées et leur importance varie dans le temps et dans l'espace (Boucher, 2012, 2015). Les principales activités impliquées sont le trafic automobile, maritime et aérien, les activités industrielles, la combustion de charbon, la combustion de biomasse pour le chauffage résidentiel, les feux de forêts, l'agriculture, l'incinération de déchets, etc. (Calvo et al., 2013; Stocker et al., 2014). La cuisson d'aliments et le tabac sont également des sources de particules non négligeables en particulier pour la qualité de l'air intérieur (Calvo et al., 2013). Ces particules d'origine anthropique sont très majoritairement carbonées et fines, cependant certaines émissions, par exemple, par l'abrasion des pneus ou encore par certaines industries (cimenterie par exemple), peuvent être plus grossières (Boucher, 2012; Calvo et al., 2013)

Tableau 2 : Estimation des flux d'émission des principaux types d'aérosols primaires et des précurseurs aux aérosols secondaires (d'après Boucher, 2012, 2015; Stocker et al., 2014). Tg = 10¹²g = 1 million de tonnes. Gg = 10⁹g = 1 millier de tonnes. C = carbone, S = soufre, N = azote. A l'échelle globale les sources biogéniques représentent 90% de la masse particulaire émise. Toutefois, à l'échelle locale ou régionale les émissions anthropiques peuvent jouer un rôle prépondérant.

Origine de la source	Sources	Flux d'émission (par an)
NATURELLES		
Primaires		
90%	Aérosols minéraux	1000—3000 Tg
	Sels marins	1000—6000 Tg
	Aérosols de feux de biomasse	20—35 Tg
	Aérosols biogéniques primaires	50—1000 Tg
	dont les bactéries	0.74—28.1 Tg
	dont les spores fongiques	8—180 Tg
Précurseurs d'aérosols secondaires		
	DMS	20—40 Tg S
	SO ₂ volcanique	6—20 Tg S
	Terpènes	40—400 Tg
ANTHROPIQUES		
Primaires		
10%	Poussière industrielles	40—130 Tg
	Aérosols de feux de biomasse	50—90 Tg
	Carbone suie (combustibles fossiles)	6—10 Tg
	Carbone Organique (combustibles fossiles)	20—30 Tg
Précurseurs d'aérosols secondaires		
	SO ₂	70—90 Tg S
	Composés organiques volatils	100—560 Tg S
	NH ₃	20—50 Tg N

Une estimation des principales sources d'émission de matière particulaire dans l'atmosphère est proposée dans le Tableau 2. La première information que l'on tire de ce tableau est que les émissions naturelles dominent très largement en masse les émissions anthropiques à l'échelle globale (Andreae, 1997; Laj and Sellegri, 2003; Seinfeld et al., 1998). Cependant, cette disproportion est largement expliquée par le fait que les émissions naturelles sont associées aux particules de diamètre supermicronique (mode grossier) alors que l'essentiel des particules de diamètre submicronique (mode "fin") quant à lui, est associé aux émissions anthropiques (Laj and Sellegri, 2003). Ce constat prend alors toute son importance dans la mesure où la plupart des impacts environnementaux des aérosols sont inhérents aux particules fines, et en particulier les impacts sanitaires liés aux problèmes de pollution par les particules en zone urbaine (Laj and Sellegri, 2003). Aussi, il est à souligner que l'importance climatique et/ou sanitaire des PM ne dépend pas seulement des flux d'émissions mais aussi de leurs caractéristiques en termes de composition chimique (Boucher, 2012, 2015).

La seconde information importante que l'on peut tirer de ce Tableau 2 est l'incertitude importante liée aux flux d'émissions estimés. Ceci est globalement imputable à la difficulté qu'ont les auteurs à estimer correctement ces flux plus qu'à une variabilité naturelle réelle (excepté dans le cas des

émissions volcaniques). Ces incertitudes importantes reflètent notamment pour les émissions primaires un manque de données à l'échelle globale (concernant les processus d'émission, d'évolution et d'abattement), combiné à une compréhension encore assez limitée des processus de formation pour les espèces secondaires (Boucher, 2012; Laj and Sullegrì, 2003; Seinfeld et al., 1998).

1.5 Composition chimique complexe de l'aérosol atmosphérique

Comme expliqué brièvement ci-dessus, la composition chimique de l'aérosol est un autre paramètre fondamental qui contrôle ses impacts sanitaires, climatiques et environnementaux (Boucher, 2012; Fuzzi et al., 2006). Les PM sont généralement classées selon leur composition en deux grands « pools » chimiques: organiques et inorganiques. En général, ces deux fractions coexistent dans l'aérosol (Boucher, 2015; Seinfeld and Pandis, 2016). Comme mentionné succinctement dans le paragraphe précédent, la composition chimique de l'aérosol varie à la fois en fonction de la nature et de la proximité des sources d'émissions, mais aussi d'un point de vue spatial et/ou temporel suivant les processus physicochimiques qui ont lieu lors du transport atmosphérique. En fonction des sources d'émissions, de la distribution granulométrique ainsi que des conditions météorologiques, l'abondance relative des différents composés peut varier d'un ordre de grandeur voire plus (Fuzzi et al., 2006).

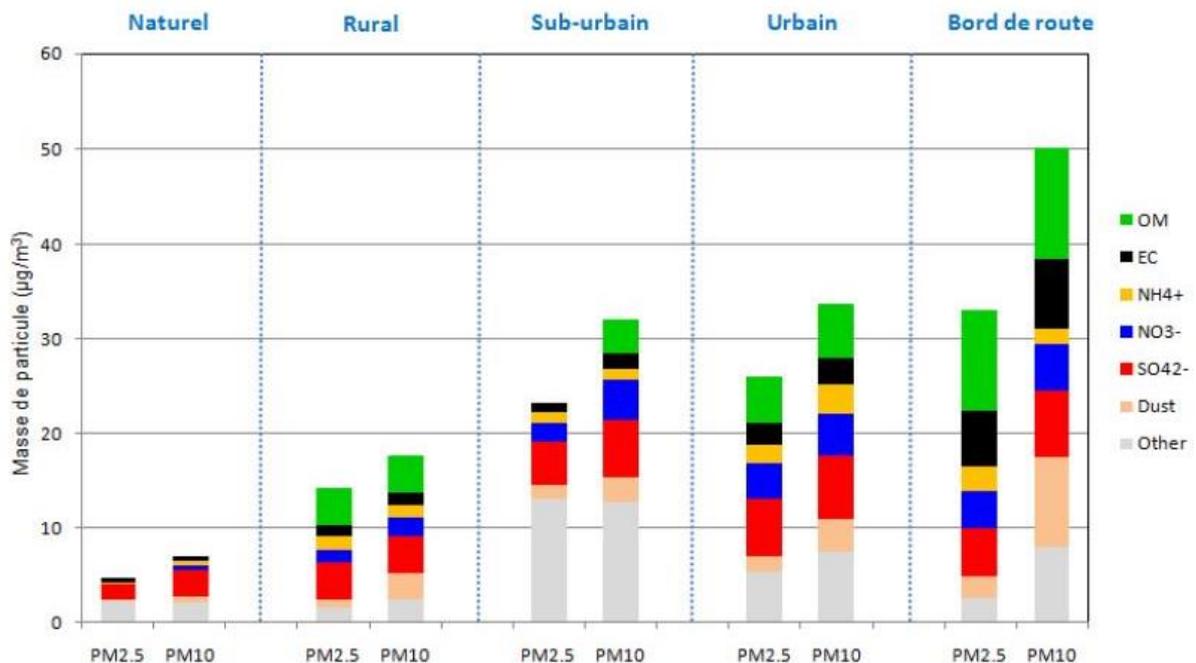


Figure 10: Composition chimique globale de l'aérosol particulaire en $PM_{2.5}$ et PM_{10} prélevées sur différentes typologies de sites en Europe (Golly, 2014, adaptée de Putaud et al., 2004). La matière organique (MO) a été estimée en multipliant la masse de carbone organique (OC) par un facteur correctif de 1.4. Ainsi la contribution de l'OM à la masse totale PM est très probablement sous-estimée (Fuzzi et al., 2015), ce qui explique en partie la fraction importante de matière particulaire non identifiée.

La fraction inorganique: cette fraction est dominée en masse par les sulfates, les nitrates et l'ammonium. Ces composés résultent en grande partie des réactions chimiques dans l'atmosphère, suivies de processus de condensation de ces produits, et sont dès lors généralement associés à l'aérosol secondaire (Delmas et al., 2005; Monks et al., 2009; Seinfeld et al., 1998). La fraction inorganique

d'origine anthropique est majoritairement constituée de sulfates d'ammonium ou de nitrates d'ammonium, et est principalement issue de processus secondaires mettant en jeu l'ammoniac (NH_3), les oxydes d'azote (NO_x) et le dioxyde de soufre (SO_2) (Duporte, 2014). D'autres espèces ioniques sont également présentes, comme le sodium, le potassium, les chlorures, etc. En général, ces ions contribuent fortement aux aérosols d'origine marine (Boucher, 2015; Delmas et al., 2005). La composante minérale (couramment appelée *Dust*), d'origine terrigène ou anthropique (remise en suspension de particules par le trafic routier, les activités agricoles, ou par les activités industrielles par exemple) est essentiellement constituée d'éléments tels que le silicium, le calcium, l'aluminium, le fer, ou encore le manganèse, principalement sous forme d'oxydes.

En règle générale, la fraction inorganique constitue entre 30 à 70% de la masse sèche de l'aérosol submicronique (Delmas et al., 2005). La spéciation chimique détaillée et les propriétés physiques et optiques (telles que la densité, l'indice de réfraction, etc.) de l'aérosol inorganique sont relativement bien connues à ce jour grâce aux mesures expérimentales et aux modélisations (Boucher, 2015; Laj and Sellegri, 2003; Seinfeld and Pandis, 2016; Zhang et al., 2007).

La fraction carbonée: cette fraction est une composante majeure et ubiquiste de l'aérosol dans quasiment tous les types d'environnements (Boucher, 2012; Delmas et al., 2005; Jimenez et al., 2009; Putaud et al., 2010; Seinfeld and Pandis, 2016). Elle peut représenter jusqu'à plus de 70 % de la masse des PM (Chevrier, 2017; Delmas et al., 2005; Favez et al., 2010; Jimenez et al., 2009). Cette composante complexe de l'aérosol est le plus souvent subdivisée en deux classes: le carbone élémentaire et le carbone organique.

Carbone élémentaire (EC) assimilable au noir de carbone (*black carbon*, BC): le carbone élémentaire, autrement appelé *black carbon*, *carbone suie* ou carbone réfractaire, en raison respectivement de sa couleur et de sa résistance aux hautes températures, a des propriétés uniques (Boucher, 2015). L'EC, inerte chimiquement, est constitué d'atomes de carbone peu ou non-fonctionnalisés et hautement polymérisés, et sa structure s'apparente à du graphite impur (Delmas et al., 2005; Seinfeld et al., 1998). L'EC est mesuré par une méthode thermique ou thermo-optique (Cavalli et al., 2010). Il est émis directement dans l'atmosphère au cours de processus de combustion incomplète (de fuels fossiles ou de biomasse) avec un flux d'émission global allant de 6 à 10 Tg C.y^{-1} (Bond et al., 2013; Boucher, 2015; Zhang and Wang, 2011). L'EC étant une fraction anthropique exclusivement primaire (Bond et al., 2013; Jacobson et al., 2000; Reddy, 2005), il existe une forte dépendance entre sa concentration atmosphérique et la distribution spatiale des sources de pollutions : plus on s'éloigne des sources, plus la concentration en EC diminue (Delmas et al., 2005).

Carbone organique: le carbone organique est défini comme la fraction de l'aérosol regroupant tous les composés organiques fonctionnalisés. Contrairement à l'EC, la matière organique particulaire (MO, encore appelé « organic aerosol (OA) ») peut être émise directement dans l'atmosphère (MO primaire) ou formé *in situ* par condensation ou nucléation des produits de dégradation photochimique de COVs (OM secondaire) (Delmas et al., 2005). La masse de la MO n'est pas mesurée directement, mais elle peut être estimée grâce aux mesures de carbone organique (OC) auxquelles un facteur correctif est appliqué afin de prendre en compte le niveau de fonctionnalisation du carbone organique oxygéné et

hydrogéné (Aiken et al., 2008; Pang et al., 2006). La valeur du ratio MO/OC est fortement dépendante des sources d'émission, du site de mesure, et des saisons. Il est généralement admis que ce ratio est très largement compris entre 1.2 et 1.8 (Turpin and Lim, 2001), mais peut aussi atteindre une valeur de 2.5 pour des aérosols organiques très oxygénés, comme l'aérosol secondaire (Aiken et al., 2008). Toutefois, il est important de souligner que l'application relativement récente de la spectrométrie de masse appliquée aux PM (Aerosol Mass Spectrometer—AMS) a permis de faire des progrès substantiels dans la caractérisation et l'étude de l'évolution de la nature chimique de l'OM submicronique, et d'accéder directement à la valeur du rapport MO/OC (Zhang et al., 2007).

La fraction organique est importante en masse et représente généralement entre 10 et 70% de la masse sèche totale de l'aérosol ambiant (Alves, 2008; Delmas et al., 2005; Li et al., 2018). Contrairement à la fraction inorganique, la MO est constituée de milliers d'espèces chimiques avec diverses caractéristiques physicochimiques en termes de réactivité, de volatilité, d'hygroscopicité, etc. (Boucher, 2015; Delmas et al., 2005). Cette diversité extraordinaire de l'aérosol organique demeure un défi majeur limitant d'une part, l'obtention d'une caractérisation chimique exhaustive de la MO et d'autre part, la compréhension de ses effets sur le climat et la santé publique (Boucher, 2015; Delmas et al., 2005; Fuzzi et al., 2007). En effet, malgré de nombreuses avancées techniques ces dernières décennies, les analyses chimiques de routine ne permettent au mieux que l'identification moléculaire d'environ 20 % de la masse de la MO (Alfarra et al., 2007; Fortenberry et al., 2018; Nozière et al., 2015; Yttri et al., 2019; Zhang et al., 2005).

Cet état de fait souligne la nécessité d'acquérir une connaissance approfondie des sources et des processus de formation et d'évolution de l'aérosol organique, afin de paramétrer au mieux les modèles de transport-chimie (CTM) aux échelles régionale et globale, qui ne parviennent généralement pas à simuler avec précision la masse de matière organique particulaire (Figure 11) (Aksoyoglu et al., 2011; Ciarelli et al., 2016). Comme illustré dans cette Figure 11, les modèles CTM sous-estiment encore largement la matière organique particulaire observée (Pai et al., 2019; Tanarhte et al., 2019). Cela conduit à une mauvaise prévision de la qualité de l'air ambiant lors d'événements de pollution spécifiques, tels que ceux liés aux fortes concentrations de PM provenant de la combustion de biomasse (Pandis et al., 2013; Stromatas et al., 2012). De plus, ces fortes incertitudes participent également aux difficultés actuelles d'une part à évaluer avec précision les effets de différentes stratégies de réduction de la concentration atmosphérique en MO dans les zones polluées, et d'autre part, à quantifier l'effet de la MO sur le changement climatique à court terme (Pandis et al., 2013; Yttri et al., 2009).

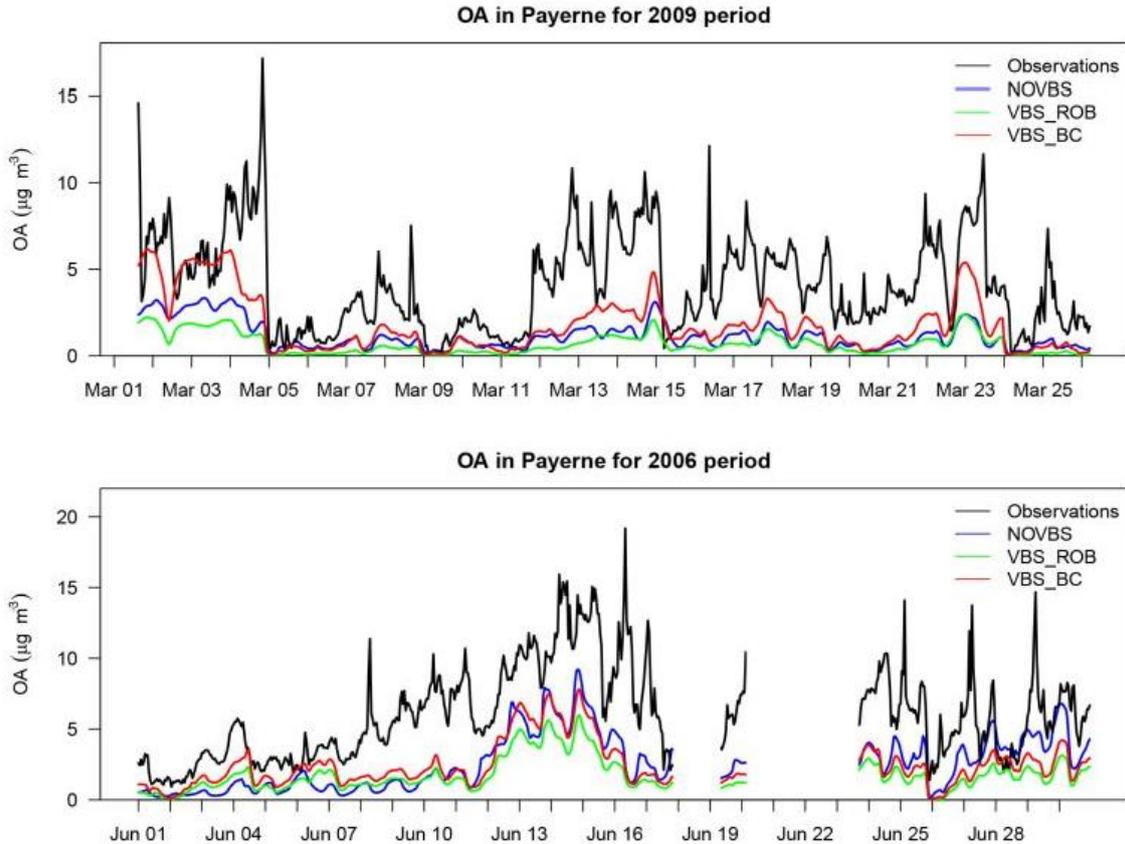


Figure 11 : Comparaison des concentrations d'aérosols organiques mesurées et prédites par un modèle eulérien de chimie-transport (CAMx) pour un site rural de fond en Suisse (adapté de Ciarelli et al., 2016). Les auteurs ont simulé trois scénarios de volatilité pour les aérosols organiques primaires. NOVBS : désigne le scénario où les aérosols organiques primaires ont été considérés comme non volatiles. VBS_ROB et VBS_BC désignent les scénarios où les aérosols organiques primaires ont été considérés comme volatiles et soumis aux oxydations dans l'atmosphère, mais en appliquant différents ratios de conversion primaire/secondaire.

Ainsi, pour avancer dans la compréhension des sources de la MO, de nombreuses études menées depuis une bonne vingtaine d'années se sont focalisées notamment sur les espèces chimiques d'origine anthropique et/ou formée secondairement *in situ* via différents processus homogènes et hétérogènes. Cependant on sait qu'une fraction massique importante de la MO résulte aussi très probablement d'émissions directes par des sources spécifiques, avec en particulier, une composante provenant des sources biogéniques (Amato et al., 2017; Andreae, 1997, 2007, 2007; Boucher, 2015; Bozzetti et al., 2016; Coz et al., 2010; Fuzzi et al., 2006; Jaenicke, 2005; Penner et al., 2001), selon des processus qui ont été proposés mais qui restent encore insuffisamment étudiés (Boucher, 2015; Bozzetti et al., 2016; Coz et al., 2010; Després et al., 2012; Elbert et al., 2007; Martin et al., 2010; Perrino and Marcovecchio, 2016; Zhu et al., 2016). Ce manque de connaissances est dû d'une part au fait que les impacts atmosphériques associés aux aérosols organiques biogéniques primaires (PBOA) ont longtemps été mal compris et mal caractérisés, et d'autre part en raison des coûts élevés et des défis analytiques pour distinguer les particules d'origine biogénique primaire des autres particules carbonées (China et al., 2016, 2018; Després et al., 2012; Martin et al., 2010; Pöschl, 2005).

Par ailleurs, la communauté des chimistes et modélisateurs de l'atmosphère a longtemps considéré les concentrations de particules d'origine biogénique primaire comme insignifiantes par rapport aux autres particules carbonées, ce qui a donc généralement limité leur prise en compte dans les caractérisations à grande échelle (avec peu de connaissance des cycles multi-annuel et des répartitions spatiales) (Després et al., 2012). De même, très peu de développements ont été faits pour l'inclusion de cette fraction dans les modèles climatiques globaux (Boucher, 2015; Després et al., 2012; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Jaenicke, 2005; Martin et al., 2010). A titre d'exemple, le troisième rapport d'évaluation du Groupe d'Experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat (GIEC) en 2001 a indiqué que la contribution globale du PBOA n'était que de 56 Tg.an⁻¹ contre 3 340 Tg.an⁻¹ pour le sel marin et 2 150 Tg.an⁻¹ pour les poussières minérales (Penner et al., 2001). Ces mêmes estimations ont été reprises dans le quatrième rapport d'évaluation du GIEC en 2007 (Després et al., 2012; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Solomon et al., 2007). De plus, le Groupe de travail I (« *Base scientifiques physique* ou *Physical Science Basis* en anglais ») — qui évalue les avancées réalisées dans la compréhension des facteurs naturels et anthropiques impliqués dans les processus de changements climatiques— n'a aucunement évoqué le PBOA dans sa contribution à ce quatrième rapport d'évaluation du GIEC (Després et al., 2012; Solomon et al., 2007).

La suite de ces travaux de thèse se focalisera donc sur cette fraction biogénique primaire de l'OM, qui reste jusqu'à présent très insuffisamment appréhendée et comprise.

2 Focus sur les aérosols organiques d'origine biogénique primaire

Cette section présente une bibliographie générale (non exhaustive) sur les aérosols organiques d'origine biogénique primaire. Afin de limiter les redondances, une bibliographie plus large est proposée dans différents chapitres dédiés de la thèse (ceci est exposé plus en détail dans les Chapitres 3, 4, 5 et 6).

2.1 Généralités sur les aérosols organiques biogéniques primaires (PBOA)

L'expression « aérosols organiques biogéniques primaires » désigne toutes les particules biologiques directement émises par la biosphère dans l'atmosphère (Amato et al., 2017; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Martin et al., 2010; Matthias-Maser and Jaenicke, 1995; Pöschl, 2005; Pöschl and Shiraiwa, 2015). Cette catégorie d'aérosols ubiquiste se subdivise en deux principaux groupes :

- le premier est constitué d'organismes vivants, qui sont capables de coloniser l'atmosphère et/ou participer à la reproduction des plantes. Ces particules incluent des cellules entières (bactéries, champignons fongiques, moisissures, virus archées, algues, etc.) et leurs unités reproductives (spores de champignons, bactéries, fougères, etc.).
- le second rassemble les organismes non vivants, qui comprennent les microorganismes morts et les débris cellulaires, ainsi que des composés cellulaires microbiens tels que les endotoxines, les mycotoxines, l'ergostérol et autres espèces chimiques résultant de ces émissions biogéniques, telles que l'ADN, la chitine, les (1,3)- β -D-glucanes; des fragments d'insectes ou de mammifères; les pollens et débris de plantes (cellulose, hémicellulose, etc.), etc.

Comme illustré avec la Figure 12, les aérosols organiques biogéniques primaires contiennent des particules dont la taille varie d'une fraction de nanomètre (ex., les protéines et virus) à quelques dizaines de micromètre (ex. les pollens). Au-delà de cette taille, les particules se déposent assez rapidement par sédimentation (Amato et al., 2017; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Manninen et al., 2014). Dans l'atmosphère, les pollens des plantes anémophiles présentent généralement un diamètre moyen compris entre 17 et 58 μm (Després et al., 2012; Shirleen M. Theisinger, 2017); les spores fongiques sont généralement plus petites (1 à 30 μm) et présentent un diamètre typiquement inférieur à 10 μm (Elbert et al., 2007; Manninen et al., 2014); celui des bactéries est généralement de 0.25-8 μm ; et les virus, qui sont typiquement moins nombreux (Shirleen M. Theisinger, 2017; Yoo et al., 2017), présentent un diamètre moyen de 0.3 μm (Manninen et al., 2014; Yoo et al., 2017). Les fragments microbiens et débris de plantes présentent des diamètres très variables (Shirleen M. Theisinger, 2017; Yoo et al., 2017).

Les particules contenues dans le PBOA peuvent exister sous forme cellulaire ou d'agglomérats de cellules (Després et al., 2012; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016). Elles peuvent également adhérer aux particules de sols mises en suspension dans l'air et/ou aux débris de feuilles, ou encore exister sous forme de conglomérats de cellules entourées d'un film de matière organique ou inorganique (Després et al., 2012; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; S. Cox and Wathes, 1995). Au sein du PBOA, les spores fongiques les plus diverses et constituent les particules biologiques les plus abondantes en nombre et en masse (Fröhlich-Nowoisky et al., 2009; Hummel et al., 2015; Tanarhte et al., 2019). Les estimations des émissions globales en masse de spores fongiques dans l'atmosphère sont très incertaines et varient entre 8 et 186 $\text{Tg}\cdot\text{an}^{-1}$ (Jacobson and Streets, 2009; Sesartic and Dallafior, 2011). De même, les estimations globales d'émissions de bactéries dans l'atmosphère varient considérablement et sont comprises entre 0.74 à 28.1 $\text{Tg}\cdot\text{an}^{-1}$ (Burrows et al., 2009; Hoose et al., 2010; Jacobson and Streets, 2009; Sesartic and Dallafior, 2011). Enfin, les estimations d'émissions globales de pollen dans l'atmosphère divergent aussi entre les études, et sont comprises entre 47 et 84 $\text{Tg}\cdot\text{an}^{-1}$ (Hoose et al., 2010; Jacobson and Streets, 2009).

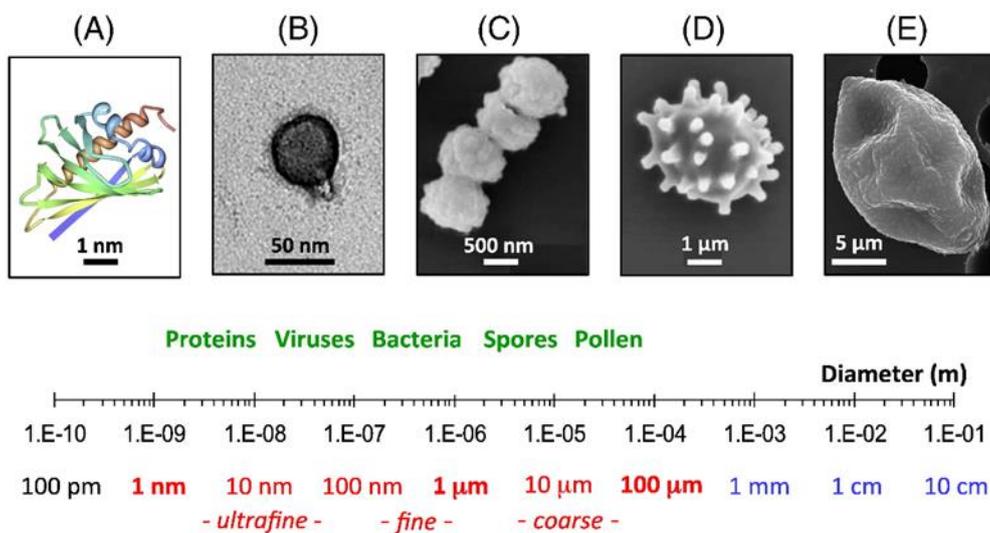


Figure 12 : Distribution en taille des particules dans les aérosols organiques biogéniques primaires avec quelques exemples d'illustrations : (A) protéine ; (B) virus, (C) bactérie, (D) spore fongique et (E) grain de pollen.(adaptée de Fröhlich-Nowoisky et al., 2016).

Des études récentes suggèrent que les aérosols organiques biogéniques primaires sont une source non négligeable de matières organiques grossières ($> 2\mu\text{m}$). Il est estimé que le flux d'émission de la MO préindustrielle pourrait être largement dominé les particules organiques d'origine biogénique primaire (Andreae, 2007; Bozzetti et al., 2016; Martin et al., 2010). A titre d'exemple, Jaenicke, (2005) a indiqué que 5 à 50 % de la masse des aérosols grossiers pourrait être associée aux PBOAs. De même, le dernier rapport d'évaluation du GIEC, qui a mieux pris cette fraction en considération que les précédents, a indiqué en 2013 que la contribution globale du PBOA pourrait varier entre 50 et 1000 $\text{Tg}\cdot\text{an}^{-1}$ (Spracklen and Heald, 2014; Stocker et al., 2014). Cette large incertitude illustre parfaitement nos lacunes dans la compréhension des sources, des processus d'émissions dans l'atmosphère et la composition générale du PBOA. Ces limites sont très probablement liées au manque de données spatiales sur le cycle annuel du PBOA et surtout à l'absence d'une approche interdisciplinaire capable de relier la chimie des aérosols à leurs caractérisations biologiques (Perrino and Marcovecchio, 2016).

Comme tous les aérosols, les PBOAs influencent également les processus atmosphériques, le climat, l'environnement et la santé humaine (voir Figure 9). Au sein du PBOA, certaines particules ont été associées à de nombreux effets délétères sur la santé humaine, comprenant certaines maladies infectieuses aux effets toxiques aigus, certaines allergies, l'asthme et certains cancers (Douwes et al., 2003; Pearson et al., 2015; Wang et al., 2015). Leurs rôles dans les allergies respiratoires sont particulièrement bien documentés dans littérature actuelle (Douglas et al., 2018; Pearson et al., 2015). Ces particules biogéniques peuvent également agir comme des vecteurs de dissémination de phytopathogènes et ainsi entraîner des pertes économiques considérables dans l'agriculture (Després et al., 2012; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Morris and Sands, 2017). De plus, elles peuvent influencer le cycle hydrogéochimique en agissant comme des CCN et IN (Amato et al., 2017; Hummel et al., 2018; Morris and Sands, 2017; Vaitilingom et al., 2013).

2.2 Caractérisation des particules biologiques atmosphériques

La détection, la classification, et la quantification des particules biogéniques primaires ont longtemps été un défi technique du fait de la complexité du matériel biologique ambiant (Bozzetti et al., 2016; Di Filippo et al., 2013). Les techniques analytiques couramment utilisées se regroupent en deux grandes catégories: les méthodes culturales et non culturales (Liang et al., 2012).

2.2.1 Méthodes culturales

Historiquement, l'aérobiologie était basée sur les techniques culturales, en particulier sur les méthodes de comptage direct sur boîtes de pétri. Cette méthode repose sur le dépôt (passif ou actif) des microorganismes sur un milieu nutritif approprié et leur développement dans des conditions d'incubation spécifique. Les unités formant colonies (UFC) sont ensuite dénombrées pour exprimer la concentration des aérosols biologiques. Cependant, cette méthodologie ne permet de collecter et de détecter que le seul matériel vivant et cultivable, bactéries, champignons et algues. Ainsi, les résultats obtenus par ces méthodes culturales sous-estiment considérablement la concentration et la diversité de particules viables contenues dans le PBOA car seulement de l'ordre de 1% des bactéries et 17% des champignons présents dans l'air ambiant sont cultivables (Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Perrino and

Marcovecchio, 2016). De plus, en raison de la faible reproductibilité et des incertitudes considérables sur les résultats, l'application des approches culturales pour des mesures quantitatives est très limitée (Fröhlich-Nowoisky et al., 2017; Liang et al., 2012).

2.2.2 Méthodes non culturales

Les méthodes traditionnelles culturales ne reflètent pas franchement l'abondance totale des aérosols biologiques, et demandent de plus beaucoup de temps et d'efforts (Liang et al., 2012). Par conséquent, diverses approches plus efficaces pour la détection et la quantification des particules contenues dans le PBOA ont été développées.

2.2.2.1 Approches biologiques et physiques

2.2.2.1.1 Coloration de protéines et d'acides nucléiques

Des colorants spécifiques peuvent être utilisés pour mettre en évidence les composants biologiques de l'aérosol. Certains colorants biologiques peuvent réagir spécifiquement avec différentes biomolécules, et cette propriété est souvent utilisée pour détecter et/ou quantifier la présence des composés spécifiques, tels que les protéines, l'ADN, les lipides, les glucides, etc. A titre d'exemple, le bleu de Coomassie — un colorant spécifique des protéines — a été utilisé par Jaenicke, (2005) pour observer les particules biologiques dont le D_p est supérieur à 2 μm . Cet auteur a montré que la fraction biologique pourrait représenter entre 5 et 50% de la masse des aérosols prélevés à Mainz, Allemagne. De même, le SYBRs — un colorant spécifique de l'ADN— a été utilisé par Bauer et al., 2008 pour dénombrer les spores au microscope à épifluorescence.

2.2.2.1.2 Amplification et hybridation des acides nucléiques

Les techniques de biologie moléculaire telles que la réaction en chaîne par polymérase (PCR) ou l'hybridation *in situ* en fluorescence (Fluorescent *in situ* hybridization —FISH) ont particulièrement été appliquées aux échantillons de PM (Perrino and Marcovecchio, 2016).

La PCR consiste à l'amplification d'une séquence d'ADN caractéristique d'un organisme ou d'un groupe d'organismes (ex. bactéries et archées, champignons, etc.). L'intérêt est qu'à partir d'un échantillon complexe et peu abondant en ADN, une importante quantité d'un fragment d'ADN cible est amplifié de l'ordre de 2^{n+1} (n : nombre de cycles de PCR). Cette technique est décrite plus en détail dans le chapitre méthodologique (chapitre 2). La PCR quantitative (qPCR) permet de mesurer la quantité initiale d'ADN présent dans un échantillon et fourni donc une estimation de l'abondance de la séquence cible. Après l'amplification de l'ADN, il est également possible de faire des études de communautés grâce aux différentes approches de séquençage (ordre d'enchaînement des nucléotides pour un fragment d'ADN donné). Parmi les différentes approches, les technologies de séquençage de nouvelle génération (NGS) sont très populaires et sont actuellement utilisées pour caractériser l'abondance et la diversité d'un groupe d'organismes contenus dans les échantillons atmosphériques (Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Fröhlich-Nowoisky et al., 2017). Cependant, très peu d'études existent à ce jour sur la caractérisation du matériel biologique atmosphérique, et aucune d'entre elle n'a effectué de

caractérisation exhaustive de la diversité des particules biogéniques primaires contenues dans un même échantillon de PM (Perrino and Marcovecchio, 2016).

L'hybridation *in situ* en fluorescence est basée sur l'emploi d'une sonde marquée possédant un fluorochrome. Ces sondes sont des séquences complémentaires de la séquence cible. Elles sont marquées par des fluorochromes tels que la fluorescéine, la rhodamine, etc. La visualisation de l'hybridation sur la séquence cible de l'ADN se fait par microscopie à épifluorescence. Il est possible d'utiliser différents types de sondes du plus généraliste (phylum) au plus spécifique (genre) (Fröhlich-Nowoisky et al., 2017).

2.2.2.1.3 Microscopie électronique

Outre ces approches biologiques, d'autres méthodes physiques ont aussi été utilisées pour quantifier la concentration de particules biologiques dans l'atmosphère (Coz et al., 2010). Les observations microscopiques directes identifient les particules biologiques à partir de leur morphologie ainsi que leur composition en oligo-éléments. La microscopie à balayage électronique couplée à la spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (MEB/EDX) a été utilisée pour déterminer la masse du PBOA associée aux PM_{2.5} (Coz et al., 2010). Cependant la grande diversité des sources biogéniques et les similitudes morphologiques entre les différentes particules atmosphériques pourraient conduire à une mauvaise évaluation de la masse du PBOA (Fröhlich-Nowoisky et al., 2017). De plus cette approche requiert beaucoup de temps, rendant très difficile la caractérisation de longues séries temporelles d'échantillons de PM.

2.2.2.1.4 Méthode de détection des particules biologiques en temps réels

La plupart des matériaux biologiques atmosphériques contiennent des molécules chimiques qui présentent une fluorescence intrinsèque (Huffman and Santarpia, 2017). Cette propriété est souvent utilisée par les instruments basés sur les méthodes de laser et/ou de fluorescence induite par la lumière UV pour la détection en ligne et la quantification spécifiques de particules biologiques présentes dans l'atmosphère. Les biofluorophores couramment utilisés sont les acides aminés aromatiques (ex. protéines), le nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH), le tryptophane, la riboflavine, la chlorophylle, les coenzymes, les métabolites et les matériaux de structure cellulaire (Fröhlich-Nowoisky et al., 2017; Huffman and Santarpia, 2017). Ces approches sont intéressantes car elles permettent d'évaluer la contribution totale des particules organiques biogéniques primaires indépendamment de leur viabilité et de leur cultivabilité (Perrino and Marcovecchio, 2016). Cependant, ces méthodes ne fournissent pas d'information sur la nature réelle des particules biogéniques présentes. De plus, des incertitudes pourraient provenir de la fluorescence d'autres particules non biogéniques primaires (ex. certains aérosols organiques biogéniques secondaires et substances humiques) ainsi que de la faible fluorescence et/ou l'autofluorescence de certains microorganismes (Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Huffman and Santarpia, 2017).

2.2.2.1.5 Approches chimiques : marqueurs moléculaires

Plusieurs traceurs moléculaires, spécifiques à un groupe ou à une communauté microbienne particulière peuvent être utilisés pour caractériser et quantifier un groupe ou une communauté biologique spécifique. A la fin des années 1970, l'ergosterol a été la première molécule proposée comme étant un marqueur moléculaire de l'abondance de champignons fongiques dans les échantillons environnementaux (Buiarelli et al., 2013; Di Filippo et al., 2013). De même, les glycérophospholipides, présents chez certains champignons et pollens, ont été utilisés pour estimer leur abondance atmosphérique (Fröhlich-Nowoisky et al., 2017; Womiloju et al., 2003). L'endotoxine, un composant majeur de la paroi des bactéries, a également été proposé comme un proxy de l'abondance des bactéries à Gram négatif (Liang et al., 2012).

2.3 Les sucres primaires comme traceur moléculaire spécifique des PBOAs

Comme nous l'avons vu ci-dessus, plusieurs approches analytiques existent pour estimer l'importance individuelle de certaines particules organiques d'origine biogénique primaire. Cependant, celles-ci ne permettent pas d'estimer la composition globale et la masse totale du PBOA, ni même les processus dominants par lesquels cette fraction se retrouve dans l'atmosphère (Bozzetti et al., 2016). Cela est cependant possible grâce à l'analyse de la spéciation moléculaire des marqueurs organiques, parmi lesquels on peut rechercher des traceurs spécifiques de sources pour identifier et quantifier la contribution des sources d'émissions à la fraction organique totale des aérosols. Ainsi pour avancer dans la compréhension des sources la MO, des carbohydrates spécifiques (notamment les polyols et saccharides primaires) ont été proposés et sont actuellement utilisés comme des traceurs moléculaires spécifiques pour estimer la contribution du PBOA à la masse totale des PM (Bauer et al., 2008; Coz et al., 2010; Gosselin et al., 2016; Li et al., 2018; Srivastava et al., 2018; Verma et al., 2018; Weber et al., 2018, 2019; Xiao et al., 2018; Zhu et al., 2015).

Un aperçu de la structure moléculaire ainsi qu'une description détaillée du rôle biologique des carbohydrates détectés dans le cadre de cette étude, et qui ciblent spécifiquement les sources d'aérosols organiques biogéniques primaires, est présenté en détail ci-après.

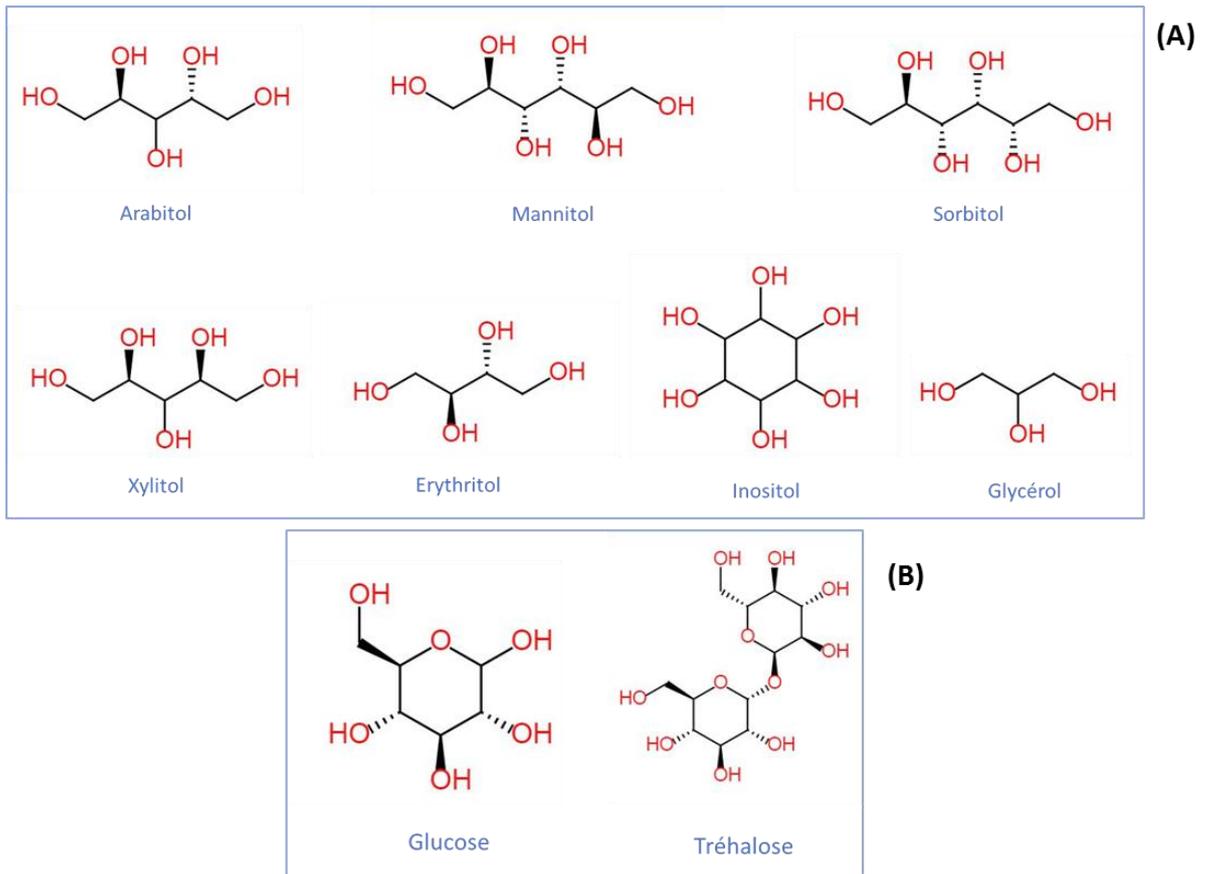


Figure 13: Structures moléculaires des carbohydrates détectés dans le cadre de cette étude, et qui ciblent spécifiquement les sources d'aérosols organiques biogéniques primaires. (A) Polyols et (B) les saccharides primaires détectés dans les aérosols. A l'heure actuelle, on estime que ces carbohydrates sont relativement stables dans l'atmosphère (Wang et al., 2018).

○ Les polyols ou sucres d'alcool sont, comme leur nom l'indique, des composés chimiques formés lorsque les groupements aldéhydes et cétones des sucres primaires sont réduits en fonctions hydroxyles. La Figure 13 illustre la structure chimique des polyols couramment détectés dans les échantillons de particules atmosphériques. Les sources proposées pour l'origine de ces espèces chimiques dans l'atmosphère sont directement liées aux pollens et algues ainsi qu'aux microorganismes des sols, et particulièrement aux bactéries ou à la flore fongique, pour lesquelles ces polyols constituent des espèces chimiques importantes d'un point de vue biologique (Medeiros et al., 2006; Rogge et al., 2007; Simoneit et al., 2004; Verma et al., 2018). En effet, les polyols entrent dans la composition de l'acide téichoïque, un des principaux constituants des parois cellulaires des bactéries à Gram positif ou des champignons (chitine) (Götz et al., 2006; Nowotny, 1979). Par ailleurs, comme chez certaines plantes vasculaires, lichens ou algues, les polyols sont utilisés par les microorganismes (notamment les bactéries et champignons) pour lutter contre les changements de potentiel osmotique cellulaire lié au stress hydrique (sécheresse estivale), aux fortes températures ou à une salinité élevée (Medeiros et al., 2006; Ruijter et al., 2003; Véléz et al., 2007; Zhu et al., 2015). Dans ces conditions difficiles, les polyols de faibles poids moléculaires (voir Figure 13) sont synthétisés et accumulés à de très hautes concentrations dans le cytoplasme, permettent aux cellules d'augmenter leur potentiel osmotique et maintenir leur turgescence (Duckworth, 2012; Hallsworth and Magan, 1996; Jia et al., 2011; Medeiros et al., 2006; Welsh, 2000). Chez les microorganismes, parmi les autres rôles biologiques majeurs proposés pour les

polyols figurent le stockage de carbohydrates de réserve servant de source d'énergie réduite et mobilisable, d'accepteurs d'hydrogène servant à maintenir le pH cytoplasmique, et leur capacité à désactiver les espèces réactives de l'oxygène (Duckworth, 2012; Upadhyay et al., 2015; Véléz et al., 2007).

- Le glucose est le monosaccharide le plus abondant chez les plantes vasculaires (Cowie and Hedges, 1984; Li et al., 2018; Medeiros et al., 2006; Zhu et al., 2015) et constitue une source importante de carbone pour les microorganismes telluriques, tels que les champignons et les bactéries (Cowie and Hedges, 1984; Jia et al., 2011; Medeiros et al., 2006; Paul and Clark, 1996). Le dioxyde de carbone (CO₂) fixé dans les feuilles arrive dans le phloème des arbres principalement sous forme de glucose + fructose et atteint les cellules racinaires sous cette forme (Martin et al., 1988; Medeiros et al., 2006).
- Le tréhalose, dimère du glucose, est largement répandu chez les microorganismes (notamment les champignons et bactéries) ainsi que chez quelques plantes supérieures et certains insectes (Elbein, 2003; Hallsworth and Magan, 1994; Teramoto et al., 2008). De très fortes concentrations de trehalose s'accumulent dans le cytoplasme cellulaire lorsque les milieux sont pauvres en nutriments ou pendant des stress hydriques et thermiques. Il joue un rôle important pour le maintien de la membrane (Elbein, 2003; Ghosh et al., 2014). Effet, le tréhalose établit des liaisons hydrogènes avec les membranes et les macromolécules lors des stress hydriques. Il empêche également la dénaturation des molécules intracellulaires (ex. les enzymes) en conditions de sécheresse estivale, garantissant aux microorganismes de reprendre leurs activités métaboliques normales lorsque les conditions redeviennent favorables (Ghosh et al., 2014).

3 Méthodologies d'identification et quantification de sources d'aérosols:

3.1 Introduction des différentes approches

Si la spéciation chimique des particules atmosphériques apporte des informations très pertinentes sur leur origine, une approche statistique et quantitative est nécessaire pour déterminer quantitativement la contribution des différentes sources majeures de l'aérosol. Selon une revue bibliographique de Viana et al. (2008), trois principales catégories de techniques de quantification des sources peuvent être définies:

- Des méthodes basées sur le traitement numérique élémentaire des données, telles que la corrélation des directions de vents et des concentrations des composantes des PM (Henry et al., 2002);
- Des méthodes basées sur des inventaires d'émissions et/ou des modèles de dispersion qui simulent les émissions, la formation, le transport et le dépôt de l'aérosol (Eldering and Cass, 1996). Ce sont typiquement les modèles de chimie transport ;
- Des méthodes basées sur l'évaluation statistique des données chimiques ambiantes de l'aérosol prélevé sur un site récepteur pour estimer le nombre de sources potentielles, leur composition chimique et pour quantifier leurs contributions à la masse des PM. Les modèles statistiques utilisés dans ce cas sont dits modèles-récepteurs et supposent la stabilité du profil chimique de la source entre la source d'émission et le site récepteur (Belis et al., 2014; Hopke et al., 2006).

La Figure 14 illustre les différents types de modèles récepteurs se différenciant par le degré de connaissance requis à priori des caractéristiques des sources d'émissions et le nombre d'échantillons nécessaires à une attribution des sources (Viana et al., 2008). Les modèles récepteurs les plus couramment utilisés dans la littérature sont le modèle univarié CMB (pour Chemical Mass Balance), nécessitant une très bonne connaissance des sources à l'émission mais pouvant être appliqué avec un échantillon unique, et le modèle PMF (pour Positive Matrix Factorization) qui au contraire, ne requiert que peu de connaissance des sources émettrices mais un très grand nombre d'échantillons (Chevrier, 2017; Viana et al., 2014).

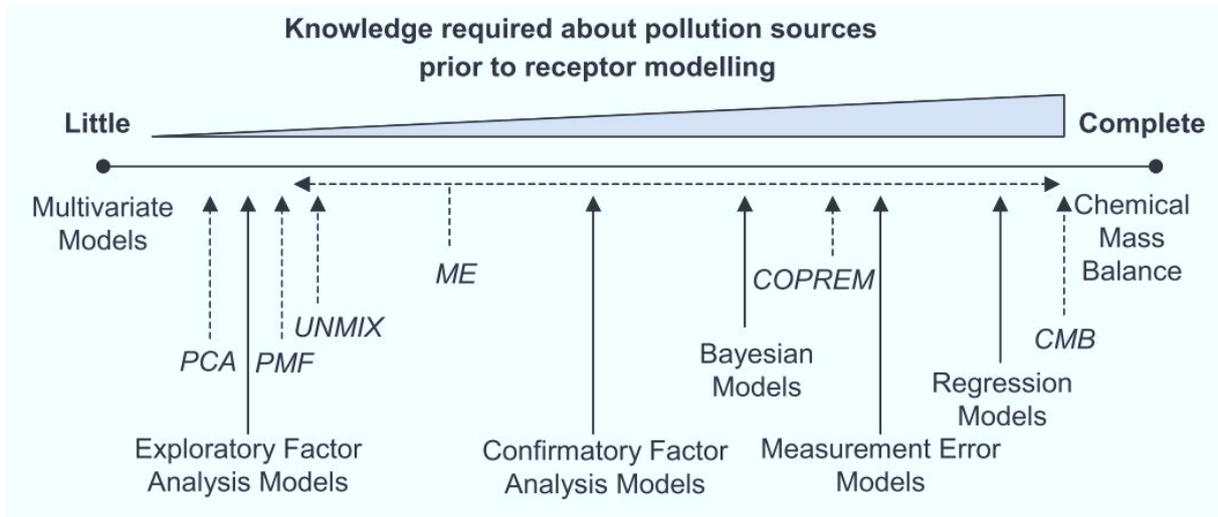


Figure 14: Les modèles-récepteurs couramment utilisés pour l'estimation des contributions des sources de PM atmosphériques (Viana et al., 2008). PCA: Principal Component Analysis; PMF: Positive Matrix Factorization; ME-2: Multilinear Engine; COPREM: Constrained Physical Receptor Model; CMB: Chemical Mass Balance.

A l'IGE, l'équipe CHIANTI (Chimie atmosphérique) est reconnue pour son expertise sur le modèle PMF et de ses développements (Chevrier, 2017; Waked et al., 2014; Weber et al., 2018, 2019), c'est celui que nous utiliserons ici.

3.2 Approche PMF : principe général du modèle

Dans le cadre de précédents travaux (DECOMBIO et SOURCE) à l'IGE, une méthodologie de PMF homogène a été développée afin d'identifier et quantifier l'importance des sources d'émission qui influencent la concentration atmosphérique en PM_{10} observée sur plusieurs sites d'étude en France. Cet important travail, réalisé en amont de cette thèse, a permis de constituer une base de données unique et primordiale pour investiguer finement la source PBOA (ceci est détaillé dans le chapitre 2).

Le modèle PMF, développé par Paatero et Tapper (1993) est une méthode d'analyse factorielle multivariée qui tente de répartir les sources de PM à partir d'une série d'observations de concentrations d'espèces chimiques (OC, EC, espèces organiques identifiées, spéciation ionique, métaux et éléments traces, etc.) mesurées sur un site récepteur, en se basant sur leurs corrélations internes. Ce modèle rassemble dans un minimum de facteurs les fractions des espèces dont les concentrations évoluent de la

même manière dans le temps, chaque facteur étant ensuite associé à une source et/ou à une catégorie de source.

La PMF permet de factoriser une matrice de données, correspondant aux concentrations mesurées sur le site récepteur X de taille $(n \times m)$, où n est le nombre d'échantillons et m le nombre des espèces chimiques, en deux matrices G correspondant aux contributions des sources d'émission p (également appelées facteurs) pour chaque échantillon n , de taille $(n \times p)$ et F correspondant aux profils des sources (composition chimique) de taille $(p \times m)$. L'écart entre la mesure X et modèle $Y = G \times F$ est donnée par E , la matrice des résidus. La PMF résout alors l'équation suivante :

$$X = G \times F + E$$

$$x_{ij} = \sum_{k=1}^p g_{ik} \times f_{kj} + e_{ij}$$

Avec x_{ij} : concentration de l'espèce j le jour i ; g_{ik} contribution du facteur k le jour i ; f_{kj} : fraction du facteur k provenant de l'espèce j et e_{ij} : la fraction de l'espèce j le jour i non expliquée par le modèle (résidu).

La PMF effectue une déconvolution en différents facteurs en associant dans chacun des facteurs des fractions de chacune des espèces chimiques reconstruites dont les concentrations évoluent de manière similaire. L'identification des facteurs en sources et/ou en catégories de sources se fait ensuite grâce aux composés traceurs caractérisant le facteur et à leur répartition dans celui-ci. Ainsi, c'est la reconnaissance géochimique (composition du facteur, identification des traceurs, adéquation avec les cycles saisonniers ou les épisodes spécifiques, etc.) qui permet d'attribuer un processus d'émission à chaque facteur. Les critères statistiques pour la validation du modèle PMF seront détaillés dans la première partie du chapitre 4.

Toutefois, une limite importante de l'outil PMF réside dans le fait que le nombre de facteurs ou le profil des facteurs obtenus par analyse PMF peut ne pas refléter les sources d'émission réelles mais des mélanges de sources compte tenu de la dynamique atmosphérique complexe, de conditions oxydantes intenses, de sources locales, etc. (Escrig et al., 2009). Un outil a alors été développé permettant de résoudre des équations multilinéaires plus complexes que la PMF (modèle bilinéaire): le ME-2 (Multilinear Engine 2) (Paatero, 1999; Paatero et al., 2014; Paatero and Hopke, 2009). Cet outil permet l'incorporation de contraintes en se basant sur la connaissance, à priori, des sources influentes sur le site d'étude.

L'approche PMF est très utilisée pour l'étude des sources de particules atmosphériques (Chevrier, 2017; Weber et al., 2019). Très récemment, Bozzetti et al. (2016), en couplant une approche PMF aux mesures de terrain à haute résolution temporelle réalisées par AMS (Aerosol Mass Spectrometer), ont pu caractériser les sources majeures des PM_{10} collectées sur un site rural de vallée en Suisse. Ces auteurs ont ainsi pu quantifier pour la première fois la masse totale de PBOA hydrosoluble (Figure 15), qui représente 41.7 % de la masse totale MO dans la fraction PM_{10} mesurée en début d'été

2012 (Juin-Juillet) sur leur site d'étude. Bien que moindre, ces auteurs ont montré que la contribution du PBOA est non négligeable et représente en moyenne 8% de la masse de matière organique dans les PM_{10} prélevées sur leur site d'étude en hiver 2013 (janvier-février). A notre connaissance, cela constitue l'unique étude portant sur la contribution totale du PBOA à la masse de MO dans les PM_{10} . Cependant, cette étude, réalisée sur une très courte série de données (deux mois), ne donne pas une vision convaincante du cycle annuel et de la dynamique spatiale de cette source importante d'aérosols organiques primaires. Ainsi, des informations complémentaires et plus robustes sont nécessaires pour une meilleure compréhension des PBOAs.

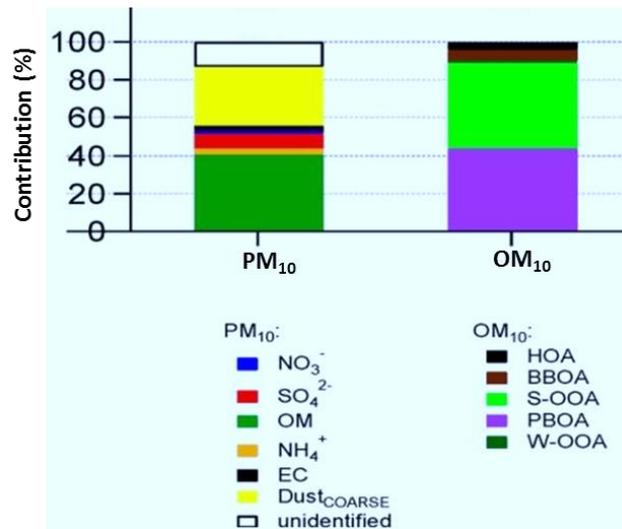


Figure 15: Spéciation chimique des PM_{10} prélevées sur un site rural Suisse (pendant l'été 2012) et les différentes sources de matières organiques observées sur le site récepteur. Ces résultats montrent que le PBOA représente une fraction majoritaire de la MO et sa contribution est similaire à celle des aérosols organiques secondaires (adaptée de Bozzetti et al., 2016).

4 Objectifs et mise en œuvre de la thèse

4.1 Motivations et objectifs de ce travail de thèse

La revue bibliographique précédente permet de mettre en évidence l'importance de l'étude des aérosols organiques atmosphériques afin de pouvoir modéliser plus précisément leur transport atmosphérique et mieux contraindre leurs impacts sur la santé humaine, le climat ainsi que sur l'environnement. Si le niveau de compréhension des aérosols organiques anthropiques et secondaires a relativement bien avancé ces dernières années, la composante biogénique primaire demeure insuffisamment étudiée. Malgré des études récentes sur la quantification individuelle de certaines classes de particules atmosphériques biologiques (ex., bactéries, champignons, pollens, etc.), la masse totale du PBOA ainsi que les principales sources et les processus dominants conduisant à son introduction dans l'atmosphère ne sont pas clairement documentés (Bozzetti et al., 2016; Coz et al., 2010). De plus, les facteurs environnementaux contrôlant leurs émissions dans l'atmosphère restent mal connus (Boucher, 2015). Ce manque de connaissances se traduit notamment par la forte divergence dans la contribution des aérosols sur le climat, et est très certainement une des raisons majeures de la sous-estimation des concentrations de la MO par les modèles. Il en découle un besoin de compréhension fine de cette source et des paramètres environnementaux qui influencent ses dynamiques temporelles et spatiales. Une meilleure compréhension de ces phénomènes demeure indispensable pour l'amélioration des outils de modélisation ainsi que pour l'élaboration de politiques publiques efficaces de qualité de l'air.

Les polyols et saccharides primaires sont actuellement proposés comme traceurs pour étudier les processus de transport atmosphérique ainsi que pour estimer la contribution du PBOA à la masse totale des aérosols organiques. Cependant, le manque criant de données spatiales (à toutes les échelles) sur les cycles journaliers et annuels fait que nos connaissances sont encore lacunaires sur la saisonnalité de ces molécules, leurs principales sources d'émissions, ou encore les paramètres environnementaux clés qui déterminent leur concentration atmosphérique. De plus, les études caractérisant la distribution granulométrique des sucres primaires contenus dans les PM sont aussi très limitées dans la littérature (Nirmalkar et al., 2018). Ce manque de connaissances se traduit par l'absence d'une documentation claire sur les processus dominants conduisant à leur introduction dans l'atmosphère.

Comme nous l'avons dans ce chapitre, une propriété des PM est leur potentiel oxydant qui peut être un indicateur de leurs effets sanitaires. La très grande majorité des études évaluant le PO des aérosols se focalise uniquement sur la fraction chimique des PM (métaux de transition, HAP et leurs dérivés, levoglucosan, etc.). Si la contribution individuelle de certains composés chimiques atmosphériques (ex., les métaux de transition, composés organiques redox actifs, etc.) au PO global des PM est maintenant plutôt bien documentée, environ 30% du PO global demeurent généralement inexplicables (Charrier et al., 2015). On peut alors se demander si les particules d'origine organique biogénique primaire pourraient contribuer, au moins en partie, à cette fraction importante inexplicée du PO de l'aérosol. Ainsi, une étude caractérisant individuellement le PO de particules identifiées d'origine biogénique primaire ainsi que leurs associations avec d'autres espèces chimiques spécifiques, connues pour leur toxicité (ex. cuivre, 1,4-naphtoquinone, etc.), pourraient peut-être permettre

l'amélioration de notre niveau de connaissance quant à la contribution biogénique des composants atmosphériques à la qualité de l'air et aux impacts sanitaires associés.

Face à ces questions insuffisamment appréhendées, au cœur de la problématique de la pollution atmosphérique, ce travail de thèse s'inscrit dans l'optique d'une meilleure compréhension du cycle annuel des aérosols organiques biogéniques primaires et des déterminants environnementaux qui conditionnent leurs concentrations. L'objectif général est d'améliorer l'état de nos connaissances sur les principales sources et les processus dominants d'émissions de polyols et de saccharides primaires, actuellement proposés pour tracer les PBOAs. Plus spécifiquement, ce travail de thèse s'est articulé autour de quatre questions principales :

- Quelle est l'origine biogénique ainsi que les principaux processus conduisant à l'introduction de polyols et saccharides particulaires dans l'atmosphère ?
- Quels sont les déterminants environnementaux clés, qui sont susceptibles d'influencer et de contrôler la teneur des PM atmosphériques en polyols et saccharides primaires ?
- Quelle est la contribution des PBOAs à la masse totale organique observée en France ?
- Est-ce que les particules organiques d'origine biogénique primaire possèdent intrinsèquement un potentiel oxydant ? Si oui, est-ce que ces particules sont susceptibles d'influencer significativement le PO global des aérosols ou celui d'espèces chimiques atmosphériques connues pour leur activité redox ?

4.2 Stratégie mise en place

Ce travail de thèse s'intègre pleinement dans la continuité des thématiques de recherche menées quotidiennement au sein de l'Institut des Géosciences de l'Environnement (la composition chimique détaillée des aérosols, de leur sources d'émission en lien avec leur potentiel oxydant et leurs caractéristiques microbiologiques, leurs sources caractérisées par une approche PMF, etc.), mais aussi dans les priorités des recherches internationales sur la qualité de l'air et ses impacts sanitaires et environnementaux.

La stratégie retenue pour aboutir aux objectifs de ce travail de thèse repose sur la mise en œuvre de deux approches complémentaires :

Dans un premier temps, ce travail s'est appuyé sur l'exploration statistique d'une importante base de données sur la spéciation chimique et la caractérisation des sources d'émission de PM atmosphériques mesurées sur des sites d'étude de typologies diversifiées et répartis sur l'ensemble du territoire national français (Chevrier, 2017; Favez et al., 2016; Weber et al., 2019). Avec des données journalières (24h) sur une durée minimale d'une année civile complète, disponibles pour plus de 28 sites répartis sur l'ensemble du territoire national et plus de 5 800 échantillons analysés (ceci est détaillé dans le chapitre 2), ces bases de données uniques sont cruciales pour estimer la masse totale ainsi que pour déterminer de manière robuste le profil chimique associé aux PBOAs. Ceci permettra de comprendre finement leurs cycles annuels, leurs dynamiques spatiales (allant de l'échelle locale à nationale) et les paramètres environnementaux qui déterminent leur niveau de concentration atmosphérique. A notre

connaissance, ce travail s'appuie sur la plus grande base de données existante pour les sucres primaires et le PBOA afin d'apporter une meilleure compréhension de leur phénoménologie atmosphérique.

Dans un second temps, ce travail s'est reposé sur le couplage de deux campagnes annuelles de terrain réalisées lors de mes 2 premières années de thèse avec la mise en œuvre d'une stratégie expérimentale de chimie analytique et de microbiologie moléculaire (séquençage haut débit de l'ADN microbien). Nous avons exploité la complémentarité de ces deux approches analytiques afin de relier la spéciation chimique des sucres primaires particulaires aux communautés microbiennes des PM de l'air. Plus spécifiquement, ces campagnes d'échantillonnage, ciblées autour des maxima de concentrations atmosphériques de sucres primaires ont permis :

- De mettre en place des prélèvements journaliers de PM_{10} sur des sites nationaux contrastés i.e., urbain et rural et localisés dans des zones géographiques climatiques distinctes (alpin vs méditerranéen vs continental avec un contexte agricole).
- Des collectes journalières (24h) de PM_{10} permettant d'apporter une caractérisation chimique et microbiologique fine des aérosols atmosphériques.
- D'identifier les communautés microbiennes présentes dans l'air et supposées à l'origine des variations temporelles et spatiales de la concentration atmosphérique en sucres primaires
- De mettre en place des collectes hebdomadaires d'échantillons de feuilles des plantes dominantes ainsi que les sols superficiels dominants autour des sites d'études et localisés sous les vents dominants. Cela visait à identifier la principale source biogénique des communautés microbiennes associées aux sucres primaires.
- D'évaluer la contribution de microorganismes modèles représentatifs de l'air ambiant extérieur et intérieur au PO global de l'aérosol.

Ce travail de thèse a fait appel à une approche méthodologie interdisciplinaire originale permettant d'étudier simultanément les caractéristiques chimiques et microbiologiques des PM, ainsi que leur potentiel oxydant. Ce travail est novateur de par son approche interdisciplinaire et sa stratégie multi-sites qui permettent une meilleure caractérisation de l'importance massique des PBOAs ainsi qu'une meilleure compréhension des facteurs environnementaux qui déterminent leur niveau atmosphérique. Les résultats de cette étude, qui sont des données d'entrée pour les modèles globaux (Myriokefalitakis et al., 2017), devraient permettre *in fine* de mieux contraindre les émissions et le transport des aérosols organiques biogéniques primaires et de mieux évaluer leur importance dans un contexte de changement climatique.

Références

Ackerman, A. S., Toon, O. B., Stevens, D. E., Heymsfield, A. J., Ramanathan, V. and Welton, E. J.: Reduction of Tropical Cloudiness by Soot, *Science*, 288(5468), 1042–1047, doi:10.1126/science.288.5468.1042, 2000.

Aiken, A. C., DeCarlo, P. F., Kroll, J. H., Worsnop, D. R., Huffman, J. A., Docherty, K. S., Ulbrich, I. M., Mohr, C., Kimmel, J. R., Sueper, D., Sun, Y., Zhang, Q., Trimborn, A., Northway, M., Ziemann, P. J., Canagaratna, M. R., Onasch, T. B., Alfarra, M. R., Prevot, A. S. H., Dommen, J., Duplissy, J., Metzger, A., Baltensperger, U. and Jimenez, J. L.: O/C and OM/OC Ratios of Primary, Secondary, and Ambient Organic Aerosols with High-Resolution Time-of-Flight Aerosol Mass Spectrometry, *Environ. Sci. Technol.*, 42(12), 4478–4485, doi:10.1021/es703009q, 2008.

Aksoyoglu, S., Keller, J., Barmpadimos, I., Oderbolz, D., Lanz, V. A., Prévôt, A. S. H. and Baltensperger, U.: Aerosol modelling in Europe with a focus on Switzerland during summer and winter episodes, *Atmospheric Chem. Phys.*, 11(14), 7355–7373, doi:10.5194/acp-11-7355-2011, 2011.

Alfarra, M. R., Prevot, A. S. H., Szidat, S., Sandradewi, J., Weimer, S., Lanz, V. A., Schreiber, D., Mohr, M. and Baltensperger, U.: Identification of the Mass Spectral Signature of Organic Aerosols from Wood Burning Emissions, *Environ. Sci. Technol.*, 41(16), 5770–5777, 2007.

Alves, C. A.: Characterisation of solvent extractable organic constituents in atmospheric particulate matter: an overview, *An. Acad. Bras. Ciênc.*, 80(1), 21–82, doi:10.1590/S0001-37652008000100003, 2008.

Amato, P., Brisebois, E., Draghi, M., Duchaine, C., Fröhlich-Nowoisky, J., Huffman, J. A., Mainelis, G., Robine, E. and Thibaudon, M.: Main Biological Aerosols, Specificities, Abundance, and Diversity, in *Microbiology of Aerosols*, pp. 1–21, John Wiley & Sons, Ltd., 2017.

Andersson, S. M., Martinsson, B. G., Friberg, J., Brenninkmeijer, C. A. M., Rauthe-Schöch, A., Hermann, M., van Velthoven, P. F. J. and Zahn, A.: Composition and evolution of volcanic aerosol from eruptions of Kasatochi, Sarychev and Eyjafjallajökull in 2008–2010 based on CARIBIC observations, *Atmospheric Chem. Phys.*, 13(4), 1781–1796, doi:10.5194/acp-13-1781-2013, 2013.

Andreae, M. O.: Atmospheric Aerosols: Biogeochemical Sources and Role in Atmospheric Chemistry, *Science*, 276(5315), 1052–1058, doi:10.1126/science.276.5315.1052, 1997.

Andreae, M. O.: Aerosols Before Pollution, *Science*, 315(Issue 5808), 50–51, doi:10.1126/science.1136529, 2007.

ANSES: Pollution de l'air : nouvelles connaissances sur les particules de l'air ambiant et l'impact du trafic routier, [online] Available from: <https://www.anses.fr/fr/content/pollution-de-l%E2%80%99air-nouvelles-connaissances-sur-les-particules-de-l%E2%80%99air-ambiant-et-l%E2%80%99impact> (Accessed 26 July 2019), 2019.

Ayres, J. G., Borm, P., Cassee, F. R., Castranova, V., Donaldson, K., Ghio, A., Harrison, R. M., Hider, R., Kelly, F., Kooter, I. M., Marano, F., Maynard, R. L., Mudway, I., Nel, A., Sioutas, C., Smith, S., Baeza-Squiban, A., Cho, A., Duggan, S. and Froines, J.: Evaluating the Toxicity of Airborne Particulate Matter and Nanoparticles by Measuring Oxidative Stress Potential—A Workshop Report and Consensus Statement, *Inhal. Toxicol.*, 20(1), 75–99, doi:10.1080/08958370701665517, 2008.

- Baeza, A.: Identification d'un indicateur du potentiel oxydant des particules atmosphéri... [online] Available from: <https://www.ademe.fr/identification-dun-indicateur-potentiel-oxydant-particules-atmospheriques> (Accessed 9 July 2019), 2017.
- Baeza, A. and Marano, F.: Pollution atmosphérique et maladies respiratoires: Un rôle central pour le stress oxydant, *médecine/sciences*, 23(5), 497–501, doi:10.1051/medsci/2007235497, 2007.
- Bauer, H., Claeys, M., Vermeylen, R., Schueller, E., Weinke, G., Berger, A. and Puxbaum, H.: Arabitol and mannitol as tracers for the quantification of airborne fungal spores, *Atmos. Environ.*, 42(3), 588–593, doi:10.1016/j.atmosenv.2007.10.013, 2008.
- Belis, C. A., Favez, O., Harrison, R. M., Larsen, B. R., Amato, F., El Haddad, I., Hopke, P. K., Nava, S., Paatero, P., Prévôt, A., Quass, U., Vecchi, R., Viana, M., European Commission, Joint Research Centre and Institute for Environment and Sustainability: European guide on air pollution source apportionment with receptor models., Publications Office, Luxembourg. [online] Available from: <http://dx.publications.europa.eu/10.2788/9307>, 2014.
- Bond, T. C., Doherty, S. J., Fahey, D. W., Forster, P. M., Berntsen, T., DeAngelo, B. J., Flanner, M. G., Ghan, S., Kärcher, B., Koch, D., Kinne, S., Kondo, Y., Quinn, P. K., Sarofim, M. C., Schultz, M. G., Schulz, M., Venkataraman, C., Zhang, H., Zhang, S., Bellouin, N., Guttikunda, S. K., Hopke, P. K., Jacobson, M. Z., Kaiser, J. W., Klimont, Z., Lohmann, U., Schwarz, J. P., Shindell, D., Storelvmo, T., Warren, S. G. and Zender, C. S.: Bounding the role of black carbon in the climate system: A scientific assessment: BLACK CARBON IN THE CLIMATE SYSTEM, *J. Geophys. Res. Atmospheres*, 118(11), 5380–5552, doi:10.1002/jgrd.50171, 2013.
- Boucher, O.: Les aérosols atmosphériques, in *Aérosols atmosphériques: Propriétés et impacts climatiques*, edited by O. Boucher, pp. 7–16, Springer Paris, Paris., 2012.
- Boucher, O.: *Atmospheric Aerosols: Properties and Climate Impacts*, Springer., 2015.
- Bozzetti, C., Daellenbach, K. R., Hueglin, C., Fermo, P., Sciare, J., Kasper-Giebl, A., Mazar, Y., Abbaszade, G., El Kazzi, M., Gonzalez, R., Shuster-Meiseles, T., Flasch, M., Wolf, R., Křepelová, A., Canonaco, F., Schnelle-Kreis, J., Slowik, J. G., Zimmermann, R., Rudich, Y., Baltensperger, U., El Haddad, I. and Prévôt, A. S. H.: Size-Resolved Identification, Characterization, and Quantification of Primary Biological Organic Aerosol at a European Rural Site, *Environ. Sci. Technol.*, 50(7), 3425–3434, doi:10.1021/acs.est.5b05960, 2016.
- Breznan, D., Karthikeyan, S., Phaneuf, M., Kumarathasan, P., Cakmak, S., Denison, M. S., Brook, J. R. and Vincent, R.: Development of an integrated approach for comparison of in vitro and in vivo responses to particulate matter, *Part. Fibre Toxicol.*, 13(1), 41, doi:10.1186/s12989-016-0152-6, 2015.
- Briottet, X.: Radiometry in the Optical Domain, in *Optical Remote Sensing of Land Surface*, pp. 1–56, Elsevier., 2016.
- Brunekreef, B. and Holgate, S. T.: Air pollution and health, *The Lancet*, 360(9341), 1233–1242, doi:10.1016/S0140-6736(02)11274-8, 2002.
- Buiarelli, F., Canepari, S., Di Filippo, P., Perrino, C., Pomata, D., Riccardi, C. and Speziale, R.: Extraction and analysis of fungal spore biomarkers in atmospheric bioaerosol by HPLC–MS–MS and GC–MS, *Talanta*, 105, 142–151, doi:10.1016/j.talanta.2012.11.006, 2013.
- Burrows, S. M., Butler, T., Jöckel, P., Tost, H., Kerkweg, A., Pöschl, U. and Lawrence, M. G.: Bacteria in the global atmosphere – Part 2: Modeling of emissions and transport between different ecosystems, *Atmospheric Chem. Phys.*, 9(23), 9281–9297, doi:10.5194/acp-9-9281-2009, 2009.

Buseck, P. R. and Adachi, K.: Nanoparticles in the Atmosphere, *Elements*, 4(6), 389–394, doi:10.2113/gselements.4.6.389, 2008.

Calas, A.: Pollution atmosphérique particulaire : développement de méthodologies non-invasives et acellulaires pour l'évaluation de l'impact sanitaire, thesis, Grenoble Alpes, 21 December. [online] Available from: <http://www.theses.fr/2017GREAU033> (Accessed 9 July 2019), 2017.

Calas, A., Uzu, G., Martins, J. M. F., Voisin, D., Spadini, L., Lacroix, T. and Jaffrezo, J.-L.: The importance of simulated lung fluid (SLF) extractions for a more relevant evaluation of the oxidative potential of particulate matter, *Sci. Rep.*, 7(1), 11617, doi:10.1038/s41598-017-11979-3, 2017.

Calas, A., Uzu, G., Kelly, F. J., Houdier, S., Martins, J. M. F., Thomas, F., Molton, F., Charron, A., Dunster, C., Oliete, A., Jacob, V., Besombes, J.-L., Chevrier, F. and Jaffrezo, J.-L.: Comparison between five acellular oxidative potential measurement assays performed with detailed chemistry on PM10 samples from the city of Chamonix (France), *Atmospheric Chem. Phys.*, 18(11), 7863–7875, doi:10.5194/acp-18-7863-2018, 2018.

Calvo, A. I., Alves, C., Castro, A., Pont, V., Vicente, A. M. and Fraile, R.: Research on aerosol sources and chemical composition: Past, current and emerging issues, *Atmospheric Res.*, 120–121, 1–28, doi:10.1016/j.atmosres.2012.09.021, 2013.

Carslaw, K. S., Lee, L. A., Reddington, C. L., Pringle, K. J., Rap, A., Forster, P. M., Mann, G. W., Spracklen, D. V., Woodhouse, M. T., Regayre, L. A., and Pierce, J. R.: Large contribution of natural aerosols to uncertainty in indirect forcing, *Nature*, 503(7474), 67–71, doi:10.1038/nature12674, 2013.

Carslaw, K. S., Gordon, H., Hamilton, D. S., Johnson, J. S., Regayre, L. A., Yoshioka, M. and Pringle, K. J.: Aerosols in the Pre-industrial Atmosphere, *Curr. Clim. Change Rep.*, 3(1), 1–15, doi:10.1007/s40641-017-0061-2, 2017.

Cavalli, F., Viana, M., Yttri, K. E., Genberg, J. and Putaud, J.-P.: Toward a standardised thermal-optical protocol for measuring atmospheric organic and elemental carbon: the EUSAAR protocol, *Atmospheric Meas. Tech.*, 3(1), 79–89, 2010.

Charrier, J. G., Richards-Henderson, N. K., Bein, K. J., McFall, A. S., Wexler, A. S. and Anastasio, C.: Oxidant production from source-oriented particulate matter-Part 1: Oxidative potential using the dithiothreitol (DTT) assay, *Atmospheric Chem. Phys.*, 15(5), 2327–2340, 2015.

Chevrier, F.: Chauffage au bois et qualité de l'air en Vallée de l'Arve : définition d'un système de surveillance et impact d'une politique de rénovation du parc des appareils anciens, PhD thesis, Université Grenoble Alpes, 23 November. [online] Available from: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01527559/document>, 2017.

China, S., Wang, B., Weis, J., Rizzo, L., Brito, J., Cirino, G. G., Kovarik, L., Artaxo, P., Gilles, M. K. and Laskin, A.: Rupturing of Biological Spores As a Source of Secondary Particles in Amazonia, *Environ. Sci. Technol.*, 50(22), 12179–12186, 2016.

China, S., Burrows, S. M., Wang, B., Harder, T. H., Weis, J., Tanarhte, M., Rizzo, L. V., Brito, J., Cirino, G. G., Ma, P.-L., Cliff, J., Artaxo, P., Gilles, M. K. and Laskin, A.: Fungal spores as a source of sodium salt particles in the Amazon basin, *Nat. Commun.*, 9(1), doi:10.1038/s41467-018-07066-4, 2018.

Cho, A. K., Sioutas, C., Miguel, A. H., Kumagai, Y., Schmitz, D. A., Singh, M., Eiguren-Fernandez, A. and Froines, J. R.: Redox activity of airborne particulate matter at different sites in the Los Angeles Basin, *Environ. Res.*, 99(1), 40–47, doi:10.1016/j.envres.2005.01.003, 2005.

- Ciarelli, G., Aksoyoglu, S., Crippa, M., Jimenez, J.-L., Nemitz, E., Sellegri, K., Äijälä, M., Carbone, S., Mohr, C., O'Dowd, C., Poulain, L., Baltensperger, U. and Prévôt, A. S. H.: Evaluation of European air quality modelled by CAMx including the volatilitybasis set scheme, *Atmospheric Chem. Phys.*, 16(16), 10313–10332, doi:10.5194/acp-16-10313-2016, 2016.
- Coffey, M. T. and Mankin, W. G.: VOLCANOES | Composition of Emissions, in *Encyclopedia of Atmospheric Sciences*, pp. 2490–2494, Elsevier., 2003.
- Coll, I.: Connaissances sur les enjeux environnementaux et climatiques des particules Knowledge on environmental and climatic issues of atmospheric particles, *Pollut. Atmos.*, 6, 2012.
- Cowie, G. L. and Hedges, J. I.: Carbohydrate sources in a coastal marine environment, *Geochim. Cosmochim. Acta*, 48(10), 2075–2087, doi:10.1016/0016-7037(84)90388-0, 1984.
- Coz, E., Artíñano, B., Clark, L. M., Hernandez, M., Robinson, A. L., Casuccio, G. S., Lersch, T. L. and Pandis, S. N.: Characterization of fine primary biogenic organic aerosol in an urban area in the northeastern United States, *Atmos. Environ.*, 44(32), 3952–3962, doi:10.1016/j.atmosenv.2010.07.007, 2010.
- Delmas, R., Mégie, G. and Peuch, V.-H.: *Physique et chimie de l'atmosphère*, Belin. Available from: https://books.google.fr/books/about/Physique_et_chimie_de_l_atmosph%C3%A8re.html?id=6ROWDgAAQBAJ&redir_esc=y (Accessed 23 June 2019), 2005.
- Delort, A.-M., Deguillaume, L., Renard, P., Vinatier, V., Canet, I., Vaïtilingom, M. and Chaumerliac, N.: Impacts on Cloud Chemistry, in *Microbiology of Aerosols*, pp. 221–248, John Wiley & Sons, Ltd. [online] Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119132318.ch3b> (Accessed 19 November 2018), 2017.
- Després, V. R., Alex Huffman, J., Burrows, S. M., Hoose, C., Safatov, A. S., Buryak, G., Fröhlich-Nowoisky, J., Elbert, W., Andreae, M. O., Pöschl, U. and Jaenicke, R.: Primary biological aerosol particles in the atmosphere: a review, *Tellus B Chem. Phys. Meteorol.*, 64(1), 15598, doi:10.3402/tellusb.v64i0.15598, 2012.
- Di Filippo, P., Pomata, D., Riccardi, C., Buiarelli, F. and Perrino, C.: Fungal contribution to size-segregated aerosol measured through biomarkers, *Atmos. Environ.*, 64, 132–140, doi:10.1016/j.atmosenv.2012.10.010, 2013.
- Donaldson, K., Li, X. Y. and MacNee, W.: Ultrafine (nanometre) particle mediated lung injury, *J. Aerosol Sci.*, 29(5–6), 553–560, doi:10.1016/S0021-8502(97)00464-3, 1998.
- Donaldson, K., Tran, L. and MacNee, W.: Deposition and effects of fine and ultrafine particles in the respiratory tract., 2002.
- Douglas, P., Robertson, S., Gay, R., Hansell, A. L. and Gant, T. W.: A systematic review of the public health risks of bioaerosols from intensive farming, *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 221(2), 134–173, doi:10.1016/j.ijheh.2017.10.019, 2018.
- Douwes, J., Thorne, P., Pearce, N. and Heederik, D.: Bioaerosol Health Effects and Exposure Assessment: Progress and Prospects, *Ann. Occup. Hyg.*, 47(3), 187–200, 2003.
- Duckworth, R.: *Water Relations of Foods: Proceedings of an International Symposium held in Glasgow, September 1974*, Elsevier., 2012.

Duporte, G.: Formation et devenir de l'aérosol organique secondaire : étude expérimentale de formation d'organosulfates à l'interface gaz-particules, thesis, Bordeaux, 1 December. [online] Available from: <http://www.theses.fr/2014BORD0262> (Accessed 1 August 2019), 2014.

Elbein, A. D.: New insights on trehalose: a multifunctional molecule, *Glycobiology*, 13(4), 17R – 27, doi:10.1093/glycob/cwg047, 2003.

Elbert, W., Taylor, P. E., Andreae, M. O. and Pöschl, U.: Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: wet and dry discharged spores, carbohydrates, and inorganic ions, *Atmospheric Chem. Phys.*, 7(17), 4569–4588, doi:10.5194/acp-7-4569-2007, 2007.

Eldering, A. and Cass, G. R.: Source-oriented model for air pollutant effects on visibility, *J. Geophys. Res. Atmospheres*, 101(D14), 19343–19369, doi:10.1029/95JD02928, 1996.

Ervens, B.: Modeling the Processing of Aerosol and Trace Gases in Clouds and Fogs, *Chem. Rev.*, 115(10), 4157–4198, doi:10.1021/cr5005887, 2015.

Escrig, A., Monfort, E., Celades, I., Querol, X., Amato, F., Minguillón, M. C. and Hopke, P. K.: Application of Optimally Scaled Target Factor Analysis for Assessing Source Contribution of Ambient PM₁₀, *J. Air Waste Manag. Assoc.*, 59(11), 1296–1307, doi:10.3155/1047-3289.59.11.1296, 2009.

Fang, T., Verma, V., Bates, J. T., Abrams, J., Klein, M., Strickland, M. J., Sarnat, S. E., Chang, H. H., Mulholland, J. A., Tolbert, P. E., Russell, A. G. and Weber, R. J.: Oxidative potential of ambient water-soluble PM_{2.5} in the southeastern United States: contrasts in sources and health associations between ascorbic acid (AA) and dithiothreitol (DTT) assays, *Atmospheric Chem. Phys.*, 16(6), 3865–3879, doi:10.5194/acp-16-3865-2016, 2016.

Favez, O., Haddad, I. E., Piot, C., Boreave, A., Abidi, E. and Marchand, N.: Inter-comparison of source apportionment models for the estimation of wood burning aerosols during wintertime in an Alpine city (Grenoble, France), *Atmos Chem Phys*, 20, 2010.

Favez, O., Salameh, D. and Jaffrezo, J.-L.: Traitement harmonisé de jeux de données multi-sites pour l'étude de sources de PM par Positive Matrix Factorization (PMF) | LCSQA. [online] Available from: https://www.lcsqa.org/system/files/rapport/lcsqa2016-traitement_harmonise_etude_sources_pmf.pdf, 2016.

Forbes, P. B. C. and Garland, R. M.: Outdoor Air Pollution, in *Comprehensive Analytical Chemistry*, vol. 73, pp. 73–96, Elsevier., 2016.

Forster, P., Ramaswamy, V., Artaxo, P., Berntsen, T., Betts, R., Fahey, D. W., Haywood, J., Lean, J., Lowe, D. C., Raga, G., Schulz, M., Dorland, R. V., Bodeker, G., Etheridge, D., Foukal, P., Fraser, P., Geller, M., Joos, F., Keeling, C. D., Keeling, R., Kinne, S., Lassey, K., Oram, D., O'Shaughnessy, K., Ramankutty, N., Reid, G., Rind, D., Rosenlof, K., Sausen, R., Schwarzkopf, D., Solanki, S. K., Stenchikov, G., Stuber, N., Takemura, T., Textor, C., Wang, R., Weiss, R., Whorf, T., Nakajima, T., Ramanathan, V., Ramaswamy, V., Artaxo, P., Berntsen, T., Betts, R., Fahey, D. W., Haywood, J., Lean, J., Lowe, D. C., Myhre, G., Nganga, J., Prinn, R., Raga, G., Schulz, M. and Dorland, R. V.: Changes in Atmospheric Constituents and in Radiative Forcing - Climate Change 2007. The Physical Science Basis., *Camb. Univ. Press*, 106, 2007.

Fortenberry, C. F., Walker, M. J., Zhang, Y., Mitroo, D., Brune, W. H. and Williams, B. J.: Bulk and molecular-level characterization of laboratory-aged biomass burning organic aerosol from oak leaf and heartwood fuels, *Atmospheric Chem. Phys.*, 18(3), 2199–2224, 2018.

Fröhlich-Nowoisky, J., Pickersgill, D. A., Després, V. R. and Pöschl, U.: High diversity of fungi in air particulate matter, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106(31), 12814–12819, doi:10.1073/pnas.0811003106, 2009.

Fröhlich-Nowoisky, J., Kampf, C. J., Weber, B., Huffman, J. A., Pöhlker, C., Andreae, M. O., Lang-Yona, N., Burrows, S. M., Gunthe, S. S., Elbert, W., Su, H., Hoor, P., Thines, E., Hoffmann, T., Després, V. R. and Pöschl, U.: Bioaerosols in the Earth system: Climate, health, and ecosystem interactions, *Atmospheric Res.*, 182, 346–376, doi:10.1016/j.atmosres.2016.07.018, 2016.

Fröhlich-Nowoisky, J., Amato, P., Renard, P., Brisebois, E. and Duchaine, C.: Quantification and Characterization of Bioaerosols (offline techniques), in *Microbiology of Aerosols*, pp. 49–82, John Wiley & Sons, Ltd., 2017.

Fu, P., Kawamura, K., Kobayashi, M. and Simoneit, B. R.: Seasonal variations of sugars in atmospheric particulate matter from Gosan, Jeju Island: Significant contributions of airborne pollen and Asian dust in spring, *Atmos. Environ.*, 55, 234–239, doi:10.1029/2003JD003697, 2012.

Fu, P. Q., Kawamura, K., Chen, J., Charrière, B. and Sempéré, R.: Organic molecular composition of marine aerosols over the Arctic Ocean in summer: contributions of primary emission and secondary aerosol formation, *Biogeosciences*, 10(2), 653–667, doi:10.5194/bg-10-653-2013, 2013.

Fuzzi, S., Andreae, M. O., Huebert, B. J., Kulmala, M., Bond, T. C., Boy, M., Doherty, S. J., Guenther, A., Kanakidou, M. and Kawamura, K.: Critical assessment of the current state of scientific knowledge, terminology, and research needs concerning the role of organic aerosols in the atmosphere, climate, and global change, *Atmospheric Chem. Phys.*, 6(7), 2017–2038, 2006.

Fuzzi, S., Decesari, S., Facchini, M. C., Cavalli, F., Emblico, L., Mircea, M., Andreae, M. O., Trebs, I., Hoffer, A., Guyon, P., Artaxo, P., Rizzo, L. V., Lara, L. L., Pauliquevis, T., Maenhaut, W., Raes, N., Chi, X., Mayol-Bracero, O. L., Soto-García, L. L., Claeys, M., Kourtchev, I., Rissler, J., Swietlicki, E., Tagliavini, E., Schkolnik, G., Falkovich, A. H., Rudich, Y., Fisch, G. and Gatti, L. V.: Overview of the inorganic and organic composition of size-segregated aerosol in Rondônia, Brazil, from the biomass-burning period to the onset of the wet season, *J. Geophys. Res.*, 112(D01201), doi:10.1029/2005JD006741, 2007.

Fuzzi, S., Baltensperger, U., Carslaw, K., Decesari, S., Denier van der Gon, H., Facchini, M. C., Fowler, D., Koren, I., Langford, B., Lohmann, U., Nemitz, E., Pandis, S., Riipinen, I., Rudich, Y., Schaap, M., Slowik, J. G., Spracklen, D. V., Vignati, E., Wild, M., Williams, M. and Gilardoni, S.: Particulate matter, air quality and climate: lessons learned and future needs, *Atmospheric Chem. Phys.*, 15(14), 8217–8299, doi:10.5194/acp-15-8217-2015, 2015.

Gehling, W., Khachatryan, L. and Dellinger, B.: Hydroxyl Radical Generation from Environmentally Persistent Free Radicals (EPFRs) in PM_{2.5}, *Environ. Sci. Technol.*, 48(8), 4266–4272, doi:10.1021/es401770y, 2014.

Ghosh, S., Basistha, B. and Ghosh, A. K.: Annual review of plant pathology, in *Trehalose, an anti-stress disaccharide promoting life-form in adverse conditions*, vol. 6, pp. 155–188, *Rev. Plant Pathol.*, 2014.

Golly, B.: Etude des sources et de la dynamique atmosphérique de polluants organiques particuliers en vallées alpines : apport de nouveaux traceurs organiques aux modèles récepteurs, thesis, Grenoble, 15 October. [online] Available from: <http://www.theses.fr/2014GRENA019> (Accessed 19 June 2019), 2014.

Gosselin, M. I., Rathnayake, C. M., Crawford, I., Pöhlker, C., Fröhlich-Nowoisky, J., Schmer, B., Després, V. R., Engling, G., Gallagher, M., Stone, E., Pöschl, U. and Huffman, J. A.: Fluorescent

bioaerosol particle, molecular tracer, and fungal spore concentrations during dry and rainy periods in a semi-arid forest, *Atmospheric Chem. Phys.*, 16(23), 15165–15184, doi:10.5194/acp-16-15165-2016, 2016.

Götz, F., Bannerman, T. and Schleifer, K.-H.: The Genera *Staphylococcus* and *Macrococcus*, in *The Prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria*, vol. 4, edited by M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, and E. Stackebrandt, pp. 5–75, Springer US, New York, NY., 2006.

Guarnieri, M. and Balmes, J. R.: Outdoor air pollution and asthma, *The Lancet*, 383(9928), 1581–1592, doi:10.1016/S0140-6736(14)60617-6, 2014.

Hallsworth, J. E. and Magan, N.: Effect of carbohydrate type and concentration on polyhydroxy alcohol and trehalose content of conidia of three entomopathogenic fungi., 1994.

Hallsworth, J. E. and Magan, N.: Culture Age, Temperature, and pH Affect the Polyol and Trehalose Contents of Fungal Propagules, *APPL Env. MICROBIOL.*, 62, 8, 1996.

Hedayat, F., Stevanovic, S., Miljevic, B., Bottle, S. and Ristovski, Z. D.: Review-evaluating the molecular assays for measuring the oxidative potential of particulate matter, *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, 21(1–2), 201–210, doi:10.2298/CICEQ140228031H, 2015.

Hedayat, F., Stevanovic, S., Milic, A., Miljevic, B., Nabi, M. N., Zare, A., Bottle, S. E., Brown, R. J. and Ristovski, Z. D.: Influence of oxygen content of the certain types of biodiesels on particulate oxidative potential, *Sci. Total Environ.*, 545–546, 381–388, doi:10.1016/j.scitotenv.2015.12.036, 2016.

Henry, R. C., Chang, Y.-S. and Spiegelman, C. H.: Locating nearby sources of air pollution by nonparametric regression of atmospheric concentrations on wind direction, *Atmos. Environ.*, 36(13), 2237–2244, doi:10.1016/S1352-2310(02)00164-4, 2002.

Hoose, C., Kristjánsson, J. E. and Burrows, S. M.: How important is biological ice nucleation in clouds on a global scale?, *Environ. Res. Lett.*, 5(2), 024009, doi:10.1088/1748-9326/5/2/024009, 2010.

Hopke, P. K., Ito, K., Mar, T., Christensen, W. F., Eatough, D. J., Henry, R. C., Kim, E., Laden, F., Lall, R., Larson, T. V., Liu, H., Neas, L., Pinto, J., Stölzel, M., Suh, H., Paatero, P. and Thurston, G. D.: PM source apportionment and health effects: 1. Intercomparison of source apportionment results, *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.*, 16(3), 275–286, doi:10.1038/sj.jea.7500458, 2006.

Huffman, J. A. and Santarpia, J.: Online Techniques for Quantification and Characterization of Biological Aerosols, in *Microbiology of Aerosols*, pp. 83–114, John Wiley & Sons, Ltd., 2017.

Hummel, M., Hoose, C., Gallagher, M., Healy, D. A., Huffman, J. A., O'Connor, D., Pöschl, U., Pöhlker, C., Robinson, N. H., Schnaiter, M., Sodeau, J. R., Stengel, M., Toprak, E. and Vogel, H.: Regional-scale simulations of fungal spore aerosols using an emission parameterization adapted to local measurements of fluorescent biological aerosol particles, *Atmospheric Chem. Phys.*, 15(11), 6127–6146, doi:10.5194/acp-15-6127-2015, 2015.

Hummel, M., Hoose, C., Pummer, B., Schaupp, C., Fröhlich-Nowoisky, J. and Möhler, O.: Simulating the influence of primary biological aerosol particles on clouds by heterogeneous ice nucleation, *Atmospheric Chem. Phys.*, 18(20), 15437–15450, doi:10.5194/acp-18-15437-2018, 2018.

IPPC: Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change - EPIC, IPCC, Geneva, Switzerland. Available from: <https://epic.awi.de/id/eprint/37530/> (Accessed 29 July 2019), 2014.

Jacobson, M. C., Hansson, H.-C., Noone, K. J. and Charlson, R. J.: Organic atmospheric aerosols: Review and state of the science, *Rev. Geophys.*, 38(2), 267–294, doi:10.1029/1998RG000045, 2000.

Jacobson, M. Z. and Streets, D. G.: Influence of future anthropogenic emissions on climate, natural emissions, and air quality, *J. Geophys. Res.*, 114(D8), D08118, doi:10.1029/2008JD011476, 2009.

Jaenicke, R.: Abundance of Cellular Material and Proteins in the Atmosphere, *Science*, 308(5718), 73–73, doi:10.1126/science.1106335, 2005.

Jia, Y., Bhat, S. and Fraser, M. P.: Characterization of saccharides and other organic compounds in fine particles and the use of saccharides to track primary biologically derived carbon sources, *Atmos. Environ.*, 44(5), 724–732, doi:10.1021/es103104e, 2011.

Jimenez, J. L., Canagaratna, M. R., Donahue, N. M., Prevot, A. S. H., Zhang, Q., Kroll, J. H., DeCarlo, P. F., Allan, J. D., Coe, H., Ng, N. L., Aiken, A. C., Docherty, K. S., Ulbrich, I. M., Grieshop, A. P., Robinson, A. L., Duplissy, J., Smith, J. D., Wilson, K. R., Lanz, V. A., Hueglin, C., Sun, Y. L., Tian, J., Laaksonen, A., Raatikainen, T., Rautiainen, J., Vaattovaara, P., Ehn, M., Kulmala, M., Tomlinson, J. M., Collins, D. R., Cubison, M. J., E., Dunlea, J., Huffman, J. A., Onasch, T. B., Alfarra, M. R., Williams, P. I., Bower, K., Kondo, Y., Schneider, J., Drewnick, F., Borrmann, S., Weimer, S., Demerjian, K., Salcedo, D., Cottrell, L., Griffin, R., Takami, A., Miyoshi, T., Hatakeyama, S., Shimojo, A., Sun, J. Y., Zhang, Y. M., Dzepina, K., Kimmel, J. R., Sueper, D., Jayne, J. T., Herndon, S. C., Trimborn, A. M., Williams, L. R., Wood, E. C., Middlebrook, A. M., Kolb, C. E., Baltensperger, U. and Worsnop, D. R.: Evolution of Organic Aerosols in the Atmosphere, *Science*, 326(5959), 1525–1529, doi:10.1126/science.1180353, 2009.

Kang, M., Fu, P., Kawamura, K., Yang, F., Zhang, H., Zang, Z., Ren, H., Ren, L., Zhao, Y., Sun, Y. and Wang, Z.: Characterization of biogenic primary and secondary organic aerosols in the marine atmosphere over the East China Sea, *Atmospheric Chem. Phys.*, 18(19), 13947–13967, doi:10.5194/acp-18-13947-2018, 2018.

Karanasiou, A., Moreno, N., Moreno, T., Viana, M., de Leeuw, F. and Querol, X.: Health effects from Sahara dust episodes in Europe: Literature review and research gaps, *Environ. Int.*, 47, 107–114, doi:10.1016/j.envint.2012.06.012, 2012.

Kelly, F. J.: Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects, *Occup. Environ. Med.*, 60(8), 612–616, doi:10.1136/oem.60.8.612, 2003.

Kelly, F. J. and Fussell, J. C.: Size, source and chemical composition as determinants of toxicity attributable to ambient particulate matter, *Atmos. Environ.*, 60, 504–526, doi:10.1016/j.atmosenv.2012.06.039, 2012.

Kelly, F. J. and Fussell, J. C.: Air pollution and public health: emerging hazards and improved understanding of risk, *Environ. Geochem. Health*, 37(4), 631–649, doi:10.1007/s10653-015-9720-1, 2015.

Kelly, F. J. and Mudway, I. S.: Protein oxidation at the air-lung interface, *Amino Acids*, 25(3–4), 375–396, doi:10.1007/s00726-003-0024-x, 2003.

Kelly, F. J., Fuller, G. W., Walton, H. A. and Fussell, J. C.: Monitoring air pollution: Use of early warning systems for public health, *Respirology*, 17(1), 7–19, doi:10.1111/j.1440-1843.2011.02065.x, 2012.

Kim, K.-H., Kabir, E. and Kabir, S.: A review on the human health impact of airborne particulate matter, *Environ. Int.*, 74, 136–143, doi:10.1016/j.envint.2014.10.005, 2015.

- Kramer, A. J., Rattanavaraha, W., Zhang, Z., Gold, A., Surratt, J. D. and Lin, Y.-H.: Assessing the oxidative potential of isoprene-derived epoxides and secondary organic aerosol, *Atmos. Environ.*, 130, 211–218, doi:10.1016/j.atmosenv.2015.10.018, 2016.
- Laj, P. and Sellegri, K.: Les aérosols atmosphériques: Impacts locaux, effets globaux, *Rev. Fr. Lab.*, 2003(349), 23–34, doi:10.1016/S0338-9898(03)80466-3, 2003.
- Lavigne, E., Yasseen, A. S., Stieb, D. M., Hystad, P., van Donkelaar, A., Martin, R. V., Brook, J. R., Crouse, D. L., Burnett, R. T., Chen, H., Weichenthal, S., Johnson, M., Villeneuve, P. J. and Walker, M.: Ambient air pollution and adverse birth outcomes: Differences by maternal comorbidities, *Environ. Res.*, 148, 457–466, doi:10.1016/j.envres.2016.04.026, 2016.
- Li, L., Ren, L., Ren, H., Yue, S., Xie, Q., Zhao, W., Kang, M., Li, J., Wang, Z., Sun, Y. and Fu, P.: Molecular Characterization and Seasonal Variation in Primary and Secondary Organic Aerosols in Beijing, China, *J. Geophys. Res. Atmospheres*, 123(21), 12,394–12,412, doi:10.1029/2018JD028527, 2018.
- Li, Q., Wyatt, A. and Kamens, R. M.: Oxidant generation and toxicity enhancement of aged-diesel exhaust, *Air Pollut. Relat. Transp.*, 43(5), 1037–1042, doi:10.1016/j.atmosenv.2008.11.018, 2009.
- Liang, L., He, K. and Duan, F.: Progress on quantitative assessment methods of biological aerosols in the atmosphere, *Biogeosciences Discuss.*, 9(2), 1511–1528, doi:10.5194/bgd-9-1511-2012, 2012.
- Liu, D.-L.: Chapter 1 - Particle Deposition onto Enclosure Surfaces, in *Developments in Surface Contamination and Cleaning*, edited by R. Kohli and K. L. Mittal, pp. 1–56, William Andrew Publishing, Oxford., 2010.
- Lodovici, M. and Bigagli, E.: Oxidative Stress and Air Pollution Exposure, *J. Toxicol.*, 2011, 1–9, doi:10.1155/2011/487074, 2011.
- Malmqvist, E., Jakobsson, K., Tinnerberg, H., Rignell-Hydbom, A. and Rylander, L.: Gestational Diabetes and Preeclampsia in Association with Air Pollution at Levels below Current Air Quality Guidelines, *Environ. Health Perspect.*, 121(4), 488–493, doi:10.1289/ehp.1205736, 2013.
- Manninen, H. E., Bäck, J., Sihto-Nissilä, S.-L., Huffman, J. A., Pessi, A.-M., Hiltunen, V., Aalto, P. P., Hidalgo Fernández, P. J., Hari, P., Saarto, A., Kulmala, M. and Petäjä, T.: Patterns in airborne pollen and other primary biological aerosol particles (PBAP), and their contribution to aerosol mass and number in a boreal forest, *Boreal Environ. Res.*, 383–405, doi:hdl.handle.net/10138/165208, 2014.
- Martin, F., Ramstedt, M., Söderhäll, K. and Canet, D.: Carbohydrate and Amino Acid Metabolism in the Ectomycorrhizal Ascomycete *Sphaerospora brunnea* during Glucose Utilization 1, *Plant Physiol.*, 86(3), 935–940, 1988.
- Martin, S. T., Andreae, M. O., Artaxo, P., Baumgardner, D., Chen, Q., Goldstein, A. H., Guenther, A., Heald, C. L., Mayol-Bracero, O. L., McMurry, P. H., Pauliquevis, T., Pöschl, U., Prather, K. A., Roberts, G. C., Saleska, S. R., Silva Dias, M. A., Spracklen, D. V., Swietlicki, E. and Trebs, I.: Sources and properties of Amazonian aerosol particles, *Rev. Geophys.*, 48(2), RG2002, doi:10.1029/2008RG000280, 2010.
- Martinelli, N., Olivieri, O. and Girelli, D.: Air particulate matter and cardiovascular disease: A narrative review, *Eur. J. Intern. Med.*, 24(4), 295–302, doi:10.1016/j.ejim.2013.04.001, 2013.

- Masclat, P. and Cachier, H.: Atmospheric particles. Physicochemical characteristics, *Analisis*, 26(9), 11–16, doi:10.1051/analisis:199826090011, 1998.
- Matthias-Maser, S. and Jaenicke, R.: The size distribution of primary biological aerosol particles with radii > 0.2 in an urban/rural influenced region, *Atmos. Res.*, 39(4), 279–286, doi:10.1016/0169-8095(95)00017-8, 1995.
- McMichael, A. J.: Earth as humans' habitat: global climate change and the health of populations, *Int. J. Health Policy Manag.*, 2(1), 9–12, doi:10.15171/ijhpm.2014.03, 2014.
- Medeiros, P. M., Conte, M. H., Weber, J. C. and Simoneit, B. R. T.: Sugars as source indicators of biogenic organic carbon in aerosols collected above the Howland Experimental Forest, Maine, *Atmos. Environ.*, 40(9), 1694–1705, 2006.
- Mégie, G.: Changement climatique et qualité de l'air, Éditeur. *Pollut. Atmos.*, (169), 5–8, doi:http://odel.irevues.inist.fr/pollution-atmospherique/index.php?id=2692, 2001.
- Mirowsky, J., Hickey, C., Horton, L., Blaustein, M., Galdanes, K., Peltier, R. E., Chillrud, S., Chen, L. C., Ross, J., Nadas, A., Lippmann, M. and Gordon, T.: The effect of particle size, location and season on the toxicity of urban and rural particulate matter, *Inhal. Toxicol.*, 25(13), 747–757, doi:10.3109/08958378.2013.846443, 2013.
- Monks, P. S., Granier, C., Fuzzi, S., Stohl, A., Williams, M. L., Akimoto, H., Amann, M., Baklanov, A., Baltensperger, U., Bey, I., Blake, N., Blake, R. S., Carslaw, K., Cooper, O. R., Dentener, F., Fowler, D., Fragkou, E., Frost, G. J., Generoso, S., Ginoux, P., Grewe, V., Guenther, A., Hansson, H. C., Henne, S., Hjorth, J., Hofzumahaus, A., Huntrieser, H., Isaksen, I. S. A., Jenkin, M. E., Kaiser, J., Kanakidou, M., Klimont, Z., Kulmala, M., Laj, P., Lawrence, M. G., Lee, J. D., Liousse, C., Maione, M., McFiggans, G., Metzger, A., Mieville, A., Moussiopoulos, N., Orlando, J. J., O'Dowd, C. D., Palmer, P. I., Parrish, D. D., Petzold, A., Platt, U., Pöschl, U., Prévôt, A. S. H., Reeves, C. E., Reimann, S., Rudich, Y., Sellegri, K., Steinbrecher, R., Simpson, D., ten Brink, H., Theloke, J., van der Werf, G. R., Vautard, R., Vestreng, V., Vlachokostas, Ch. and von Glasow, R.: Atmospheric composition change – global and regional air quality, *Atmos. Environ.*, 43(33), 5268–5350, doi:10.1016/j.atmosenv.2009.08.021, 2009.
- Morris, C. E. and Sands, D. C.: Impacts of Microbial Aerosols on Natural and Agro-ecosystems: Immigration, Invasions, and their Consequences, in *Microbiology of Aerosols*, pp. 269–279, John Wiley & Sons, Ltd., 2017.
- Myriokefalitakis, S., Fanourgakis, G. and Kanakidou, M.: The Contribution of Bioaerosols to the Organic Carbon Budget of the Atmosphere, in *Perspectives on Atmospheric Sciences*, edited by T. Karacostas, A. Bais, and P. T. Nastos, pp. 845–851, Springer International Publishing., 2017.
- Nirmalkar, J., Deshmukh, D. K., Deb, M. K., Tsai, Y. I. and Pervez, S.: Characteristics of aerosol during major biomass burning events over eastern central India in winter: A tracer-based approach, *Atmospheric Pollut. Res.*, doi:10.1016/j.apr.2018.12.010, 2018.
- Nowotny, A.: Extraction of Teichoic Acid, in *Basic Exercises in Immunochemistry: A Laboratory Manual*, edited by A. Nowotny, pp. 78–80, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg., 1979.
- Nozière, B., Kalberer, M., Claeys, M., Allan, J., D'Anna, B., Decesari, S., Finessi, E., Glasius, M., Grgić, I., Hamilton, J. F., Hoffmann, T., Iinuma, Y., Jaoui, M., Kahnt, A., Kampf, C. J., Kourtschev, I., Maenhaut, W., Marsden, N., Saarikoski, S., Schnelle-Kreis, J., Surratt, J. D., Szidat, S., Szmigielski, R. and Wisthaler, A.: The Molecular Identification of Organic Compounds in the Atmosphere: State of the Art and Challenges, *Chem. Rev.*, 115(10), 3919–3983, doi:10.1021/cr5003485, 2015.

Oberdörster, G., Oberdörster, E. and Oberdörster, J.: Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles, *Environ. Health Perspect.*, 113(7), 823–839, doi:10.1289/ehp.7339, 2005.

Paatero, P.: The Multilinear Engine—A Table-Driven, Least Squares Program for Solving Multilinear Problems, Including the n-Way Parallel Factor Analysis Model, *J. Comput. Graph. Stat.*, 8(4), 854–888, doi:10.1080/10618600.1999.10474853, 1999.

Paatero, P. and Hopke, P. K.: Rotational tools for factor analytic models, *J. Chemom.*, 23(2), 91–100, doi:10.1002/cem.1197, 2009.

Paatero, P., Eberly, S., Brown, S. G. and Norris, G. A.: Methods for estimating uncertainty in factor analytic solutions, *Atmospheric Meas. Tech.*, 7(3), 781–797, doi:10.5194/amt-7-781-2014, 2014.

Pai, S. J., Heald, C. L., Pierce, J. R., Farina, S. C., Marais, E. A., Jimenez, J. L., Campuzano-Jost, P., Nault, B. A., Middlebrook, A. M., Coe, H., Shilling, J. E., Bahreini, R., Dingle, J. H. and Vu, K.: An evaluation of global organic aerosol schemes using airborne observations, *Atmospheric Chem. Phys. Discuss.*, 1–39, doi:10.5194/acp-2019-331, 2019.

Pandis, S. N., Donahue, N. M., Murphy, B. N., Riipinen, I., Fountoukis, C., Karnezi, E., Patoulias, D. and Skyllakou, K.: Introductory lecture: Atmospheric organic aerosols: insights from the combination of measurements and chemical transport models, *Faraday Discuss.*, 165, 9, doi:10.1039/c3fd00108c, 2013.

Pang, Y., Turpin, B. J. and Gundel, L. A.: On the Importance of Organic Oxygen for Understanding Organic Aerosol Particles, *Aerosol Sci. Technol.*, 40(2), 128–133, doi:10.1080/02786820500423790, 2006.

Pascal, M., Chanel, P. de C., Corso, M., Medina, S., Wagner, V., Gorla, S., Beaudeau, P., Bentayeb, M., Tertre, A. L., Ung, A., Chatignoux, E. and Quénel, P.: Impacts de l'exposition chronique aux particules fines sur la mortalité en France continentale et analyse des gains en santé de plusieurs scénarios de réduction de la pollution atmosphérique, *Santé Publique Fr.*, 162, doi:https://www.santepubliquefrance.fr/determinants-de-sante/pollution-et-sante/air/documents/rapport-synthese/impacts-de-l-exposition-chronique-aux-particules-fines-sur-la-mortalite-en-france-continentale-et-analyse-des-gains-en-sante-de-plusieurs-scenarios, 2016.

Paul, E. A. and Clark, F. E.: *Soil microbiology and biochemistry*, 2nd ed., San Diego, Calif. : Academic Press. [online] Available from: <https://trove.nla.gov.au/version/44969013> (Accessed 26 June 2019), 1996.

Pearson, C., Littlewood, E., Douglas, P., Robertson, S., Gant, T. W. and Hansell, A. L.: Exposures and Health Outcomes in Relation to Bioaerosol Emissions From Composting Facilities: A Systematic Review of Occupational and Community Studies, *J. Toxicol. Environ. Health Part B*, 18(1), 43–69, doi:10.1080/10937404.2015.1009961, 2015.

Penner, J. E., Andreae, M., Annegarn, H., Barrie, L., Feichter, J., Hegg, D., Jayaraman, A., Leitch, R., Murphy, D., Nganga, J., Pitari, G., Ackerman, A., Adams, P., Austin, P., Boers, R., Boucher, O., Chin, M., Chuang, C., Collins, B., Cooke, W., DeMott, P., Feng, Y., Fischer, H., Fung, I., Ghan, S., Ginoux, P., Higurashi, A., Kaufman, Y., Kettle, A., Kiehl, J., Koch, D., Lammel, G., Land, C., Lohmann, U., Madronich, S., Mancini, E., Mishchenko, M., Nakajima, T., Quinn, P., Rasch, P., Roberts, D. L., Savoie, D., Schwartz, S., Seinfeld, J., Soden, B., Tanré, D., Taylor, K., Tegen, I., Tie, X., Vali, G., Dingenen, R. V., van Weele, M., Zhang, Y., Nyenzi, B. and Prospero, J.: Aerosols, their Direct and Indirect Effects, in *Climate Change 2001: The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, pp. 289–348, J. T. Houghton, Y. Ding, D. J.

- Griggs, M. Noguer, P. J. van der Linden and D. Xiaosu, Cambridge, UK, and New York, NY, USA., 2001.
- Perrino, C. and Marcovecchio, F.: A new method for assessing the contribution of Primary Biological Atmospheric Particles to the mass concentration of the atmospheric aerosol, *Environ. Int.*, 87, 108–115, doi:10.1016/j.envint.2015.11.015, 2016.
- Peters, A. and Pope, C. A.: Cardiopulmonary mortality and air pollution, *The Lancet*, 360(9341), 1184–1185, doi:10.1016/S0140-6736(02)11289-X, 2002.
- Pope, C. A.: Mortality Effects of Longer Term Exposures to Fine Particulate Air Pollution: Review of Recent Epidemiological Evidence, *Inhal. Toxicol.*, 19(sup1), 33–38, doi:10.1080/08958370701492961, 2007.
- Pope, C. A. and Dockery, D. W.: Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect, *J. Air Waste Manag. Assoc.*, 56(6), 709–742, 2006.
- Pöschl, U.: Atmospheric Aerosols: Composition, Transformation, Climate and Health Effects, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 44(46), 7520–7540, doi:10.1002/anie.200501122, 2005.
- Pöschl, U. and Shiraiwa, M.: Multiphase Chemistry at the Atmosphere–Biosphere Interface Influencing Climate and Public Health in the Anthropocene, *Chem. Rev.*, 115(10), 4440–4475, 2015.
- Prajapati, S. K.: Ecological effect of airborne particulate matter on plants, *Environmental Skeptics and Critics*, 1(1):12-22, 2012.
- Putaud, J.-P., Raes, F., Van Dingenen, R., Brüggemann, E., Facchini, M.-C., Decesari, S., Fuzzi, S., Gehrig, R., Hüglin, C., Laj, P., Lorbeer, G., Maenhaut, W., Mihalopoulos, N., Müller, K., Querol, X., Rodriguez, S., Schneider, J., Spindler, G., Brink, H. ten, Tørseth, K. and Wiedensohler, A.: A European aerosol phenomenology 2: chemical characteristics of particulate matter at kerbside, urban, rural and background sites in Europe, *Atmos. Environ.*, 38(16), 2579–2595, 2004.
- Putaud, J.-P., Van Dingenen, R., Alastuey, A., Bauer, H., Birmili, W., Cyrys, J., Flentje, H., Fuzzi, S., Gehrig, R., Hansson, H. C., Harrison, R. M., Herrmann, H., Hitzenberger, R., Hüglin, C., Jones, A. M., Kasper-Giebl, A., Kiss, G., Kousa, A., Kuhlbusch, T. A. J., Löschau, G., Maenhaut, W., Molnar, A., Moreno, T., Pekkanen, J., Perrino, C., Pitz, M., Puxbaum, H., Querol, X., Rodriguez, S., Salma, I., Schwarz, J., Smolik, J., Schneider, J., Spindler, G., ten Brink, H., Tursic, J., Viana, M., Wiedensohler, A. and Raes, F.: A European aerosol phenomenology – 3: Physical and chemical characteristics of particulate matter from 60 rural, urban, and kerbside sites across Europe, *Atmos. Environ.*, 44(10), 1308–1320, 2010.
- Ramanathan, V. and Carmichael, G.: Global and regional climate changes due to black carbon, *Nat. Geosci.*, 1(4), 221–227, doi:10.1038/ngeo156, 2008.
- Reddy, M. S.: Estimates of global multicomponent aerosol optical depth and direct radiative perturbation in the Laboratoire de Météorologie Dynamique general circulation model, *J. Geophys. Res.*, 110(D10), D10S16, doi:10.1029/2004JD004757, 2005.
- Rogge, W. F., Medeiros, P. M. and Simoneit, B. R. T.: Organic marker compounds in surface soils of crop fields from the San Joaquin Valley fugitive dust characterization study, *Atmos. Environ.*, 41(37), 8183–8204, doi:10.1016/j.atmosenv.2007.06.030, 2007.

Ruijter, G. J. G., Bax, M., Patel, H., Flitter, S. J., Vondervoort, P. J. I. van de, Vries, R. P. de, vanKuyk, P. A. and Visser, J.: Mannitol Is Required for Stress Tolerance in *Aspergillus niger* Conidiospores, *Eukaryot. Cell*, 2(4), 690–698, doi:10.1128/EC.2.4.690-698.2003, 2003.

S. Cox, C. and Wathes, C.: *Bioaerosols Handbook.*, CRC Press Inc., 1995.

Seinfeld, J. H. and Pandis, S. N.: *Atmospheric Chemistry and Physics: From Air Pollution to Climate Change*, John Wiley & Sons., 2016.

Seinfeld, J. H., Pandis, S. N. and Noone, K.: *Atmospheric Chemistry and Physics: From Air Pollution to Climate Change*. [online] Available from: <http://adsabs.harvard.edu/abs/1998PhT....51j..88S> (Accessed 26 July 2019), 1998.

Sesartic, A. and Dallafior, T. N.: Global fungal spore emissions, review and synthesis of literature data, *Biogeosciences*, 8(5), 1181–1192, doi:10.5194/bg-8-1181-2011, 2011.

Shirleen M. Theisinger: *Bioaerosols in the Food and Beverage Industry*, in *Ideas and Applications Toward Sample Preparation for Food and Beverage Analysis*, edited by Olga de Smidt ED1 - Mark T. Stauffer, p. Ch. 3, IntechOpen, Rijeka., 2017.

Simoneit, B. R. T., Elias, V. O., Kobayashi, M., Kawamura, K., Rushdi, A. I., Medeiros, P. M., Rogge, W. F. and Didyk, B. M.: Sugars Dominant Water-Soluble Organic Compounds in Soils and Characterization as Tracers in Atmospheric Particulate Matter, *Environ. Sci. Technol.*, 38(22), 5939–5949, 2004.

Smichowski, P. and Gómez, D.: Spectroscopic and Chromatographic Techniques and Methodologies for the Determination of Metals, Metalloids and Ions in Atmospheric Aerosols, in *Comprehensive Analytical Chemistry*, vol. 70, pp. 239–266, Elsevier., 2015.

Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Marquis, M., Averyt, K., Tignor, M. M. B., LeRoy, H., Milner, Jr. and Chen, Z.: *Climate Change 2007 - The Physical Science Basis: Working Group I Contribution to the Fourth Assessment Report of the IPCC*, Cambridge University Press., 2007.

Spracklen, D. V. and Heald, C. L.: The contribution of fungal spores and bacteria to regional and global aerosol number and ice nucleation immersion freezing rates, *Atmos Chem Phys*, 10, 2014.

Spracklen, D. V., Carslaw, K. S., Pöschl, U., Rap, A. and Forster, P. M.: Global cloud condensation nuclei influenced by carbonaceous combustion aerosol, *Atmospheric Chem. Phys.*, 11(17), 9067–9087, doi:10.5194/acp-11-9067-2011, 2011.

Srivastava, D., Tomaz, S., Favez, O., Lanzafame, G. M., Golly, B., Besombes, J.-L., Alleman, L. Y., Jaffrezo, J.-L., Jacob, V., Perraudin, E., Villenave, E. and Albinet, A.: Speciation of organic fraction does matter for source apportionment. Part 1: A one-year campaign in Grenoble (France), *Sci. Total Environ.*, 624, 1598–1611, doi:10.1016/j.scitotenv.2017.12.135, 2018.

Steenhof, M., Gosens, I., Strak, M., Godri, K. J., Hoek, G., Cassee, F. R., Mudway, I. S., Kelly, F. J., Harrison, R. M., Lebret, E., Brunekreef, B., Janssen, N. A. and Pieters, R. H.: In vitro toxicity of particulate matter (PM) collected at different sites in the Netherlands is associated with PM composition, size fraction and oxidative potential - the RAPTES project, *Part. Fibre Toxicol.*, 8(1), 26, doi:10.1186/1743-8977-8-26, 2011.

Stevens, B. and Boucher, O.: The aerosol effect, *Nature*, 490(7418), 40–41, doi:10.1038/490040a, 2012.

- Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G.-K., Tignor, M. M. B., Allen, S. K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V. and Midgley, P. M.: IPCC, 2013: Climate Change 2013: Working Group I Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge university press. [online] Available from: <https://www.cambridge.org/fr/academic/subjects/earth-and-environmental-science/climatology-and-climate-change/climate-change-2013-physical-science-basis-working-group-i-contribution-fifth-assessment-report-intergovernmental-panel-climate-change?format=PB&isbn=9781107661820>, 2014.
- Stromatas, S., Turquety, S., Menut, L., Chepfer, H., Péré, J. C., Cesana, G. and Bessagnet, B.: Lidar signal simulation for the evaluation of aerosols in chemistry transport models, *Geosci. Model Dev.*, 5(6), 1543–1564, doi:10.5194/gmd-5-1543-2012, 2012.
- Sun, J. and Ariya, P.: Atmospheric organic and bio-aerosols as cloud condensation nuclei (CCN): A review, *Atmos. Environ.*, 40(5), 795–820, doi:10.1016/j.atmosenv.2005.05.052, 2006.
- Tanarhte, M., Bacer, S., Burrows, S. M., Huffman, J. A., Pierce, K. M., Pozzer, A., Sarda-Estève, R., Savage, N. J. and Lelieveld, J.: Global modeling of fungal spores with the EMAC chemistryclimate model: uncertainties in emission parametrizations and observations, *Atmospheric Chem. Phys. Discuss.*, 1–31, doi:10.5194/acp-2019-251, 2019.
- Teramoto, N., Sachinvala, N. and Shibata, M.: Trehalose and Trehalose-based Polymers for Environmentally Benign, Biocompatible and Bioactive Materials, *Molecules*, 13(8), 1773–1816, doi:10.3390/molecules13081773, 2008.
- Thomalla, F., Downing, T., Spanger-Siegfried, E., Han, G. and Rockström, J.: Reducing hazard vulnerability: towards a common approach between disaster risk reduction and climate adaptation: Reducing Hazard Vulnerability, *Disasters*, 30(1), 39–48, doi:10.1111/j.1467-9523.2006.00305.x, 2006.
- Turpin, B. J. and Lim, H.-J.: Species Contributions to PM_{2.5} Mass Concentrations: Revisiting Common Assumptions for Estimating Organic Mass, *Aerosol Sci. Technol.*, 35(1), 602–610, doi:10.1080/02786820119445, 2001.
- Upadhyay, R. S., Meena, M., Prasad, V., Zehra, A. and Gupta, V. K.: Mannitol metabolism during pathogenic fungal–host interactions under stressed conditions, *Front. Microbiol.*, 6, doi:10.3389/fmicb.2015.01019, 2015.
- Uzu, G., Sauvain, J.-J., Baeza-Squiban, A., Riediker, M., Sánchez Sandoval Hohl, M., Val, S., Tack, K., Denys, S., Pradère, P. and Dumat, C.: In vitro Assessment of the Pulmonary Toxicity and Gastric Availability of Lead-Rich Particles from a Lead Recycling Plant, *Environ. Sci. Technol.*, 45(18), 7888–7895, 2011.
- Väitilingom, M., Deguillaume, L., Vinatier, V., Sancelme, M., Amato, P., Chaumerliac, N. and Delort, A.-M.: Potential impact of microbial activity on the oxidant capacity and organic carbon budget in clouds, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 110(2), 559–564, 2013.
- Véléz, H., Glassbrook, N. J. and Daub, M. E.: Mannitol metabolism in the phytopathogenic fungus *Alternaria alternata*, *Fungal Genet. Biol.*, 44(4), 258–268, doi:10.1016/j.fgb.2006.09.008, 2007.
- Verma, S. K., Kawamura, K., Chen, J. and Fu, P.: Thirteen years of observations on primary sugars and sugar alcohols over remote Chichijima Island in the western North Pacific, *Atmospheric Chem. Phys.*, 18(1), 81–101, doi:https://doi.org/10.5194/acp-18-81-2018, 2018.
- Verma, V., Fang, T., Guo, H., King, L., Bates, J. T., Peltier, R. E., Edgerton, E., Russell, A. G. and Weber, R. J.: Reactive oxygen species associated with water-soluble PM_{2.5} in the southeastern United

States: spatiotemporal trends and source apportionment, *Atmospheric Chem. Phys.*, 14(23), 12915–12930, 2014.

Viana, M., Kuhlbusch, T. A. J., Querol, X., Alastuey, A., Harrison, R. M., Hopke, P. K., Winiwarter, W., Vallius, M., Szidat, S., Prévôt, A. S. H., Hueglin, C., Bloemen, H., Wählén, P., Vecchi, R., Miranda, A. I., Kasper-Giebl, A., Maenhaut, W. and Hitzenberger, R.: Source apportionment of particulate matter in Europe: A review of methods and results, *J. Aerosol Sci.*, 39(10), 827–849, doi:10.1016/j.jaerosci.2008.05.007, 2008.

Viana, M., Hammingh, P., Colette, A., Querol, X., Degraeuwe, B., Vlieger, I. de and van Aardenne, J.: Impact of maritime transport emissions on coastal air quality in Europe, *Atmos. Environ.*, 90, 96–105, doi:10.1016/j.atmosenv.2014.03.046, 2014.

Villeneuve, É., Aymoz, G., Beekmann, M., Baeza-Squiban, A. and Colosio, J.: La pollution de l'air par les particules : des connaissances scientifiques au service des acteurs, *Pollut. Atmos.*, 7, 2012.

Waked, A., Favez, O., Alleman, L. Y., Piot, C., Petit, J.-E., Delaunay, T., Verlinden, E., Golly, B., Besombes, J.-L., Jaffrezo, J.-L. and Leoz-Garziandia, E.: Source apportionment of PM₁₀ in a north-western Europe regional urban background site (Lens, France) using positive matrix factorization and including primary biogenic emissions, *Atmos Chem Phys*, 14(7), 3325–3346, doi:10.5194/acp-14-3325-2014, 2014.

Wang, C.-H., Chen, B. T., Han, B.-C., Liu, A. C.-Y., Hung, P.-C., Chen, C.-Y. and Chao, H. J.: Field Evaluation of Personal Sampling Methods for Multiple Bioaerosols, *PLOS ONE*, 19, 2015.

Wang, X., Shen, Z., Liu, F., Lu, D., Tao, J., Lei, Y., Zhang, Q., Zeng, Y., Xu, H., Wu, Y., Zhang, R. and Cao, J.: Saccharides in summer and winter PM_{2.5} over Xi'an, Northwestern China: Sources, and yearly variations of biomass burning contribution to PM_{2.5}, *Atmospheric Res.*, 214, 410–417, doi:10.1016/j.atmosres.2018.08.024, 2018.

Weber, S., Uzu, G., Calas, A., Chevrier, F., Besombes, J.-L., Charron, A., Salameh, D., Ježek, I., Močnik, G. and Jaffrezo, J.-L.: An apportionment method for the oxidative potential of atmospheric particulate matter sources: application to a one-year study in Chamonix, France, *Atmospheric Chem. Phys.*, 18(13), 9617–9629, doi:10.5194/acp-18-9617-2018, 2018.

Weber, S., Salameh, D., Albinet, A., Alleman, L. Y., Waked, A., Besombes, J.-L., Jacob, V., Guillaud, G., Meshbah, B., Rocq, B., Hulin, A., Dominik-Sègue, M., Chrétien, E., Jaffrezo, J.-L. and Favez, O.: Comparison of PM₁₀ Sources Profiles at 15 French Sites Using a Harmonized Constrained Positive Matrix Factorization Approach, *Atmosphere*, 10(6), 310, doi:10.3390/atmos10060310, 2019.

Welsh, D. T.: Ecological significance of compatible solute accumulation by micro-organisms: from single cells to global climate, *FEMS Microbiol. Rev.*, 24(3), 263–290, doi:10.1111/j.1574-6976.2000.tb00542.x, 2000.

WHO: World Health Organization. Ambient air pollution: a global assessment of exposure and burden of disease, World Health Organization. [online] Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/250141> (Accessed 27 June 2019), 2016.

Womiloju, T. O., Miller, J. D., Mayer, P. M. and Brook, J. R.: Methods to determine the biological composition of particulate matter collected from outdoor air, *Atmos. Environ.*, 37(31), 4335–4344, doi:10.1016/S1352-2310(03)00577-6, 2003.

Wu, J., Li, Y., Ye, T. and Li, N.: Changes in mortality and economic vulnerability to climatic hazards under economic development at the provincial level in China, *Reg. Environ. Change*, 19(1), 125–136, doi:10.1007/s10113-018-1386-7, 2019.

Xiao, G. G., Wang, M., Li, N., Loo, J. A. and Nel, A. E.: Use of Proteomics to Demonstrate a Hierarchical Oxidative Stress Response to Diesel Exhaust Particle Chemicals in a Macrophage Cell Line, *J. Biol. Chem.*, 278(50), 50781–50790, doi:10.1074/jbc.M306423200, 2003.

Xiao, M., Wang, Q., Qin, X., Yu, G. and Deng, C.: Composition, Sources, and Distribution of PM_{2.5} Saccharides in a Coastal Urban Site of China, *Atmosphere*, 9(7), 274, doi:10.3390/atmos9070274, 2018.

Yan, C., Sullivan, A. P., Cheng, Y., Zheng, M., Zhang, Y., Zhu, T. and Collett, J. L.: Characterization of saccharides and associated usage in determining biogenic and biomass burning aerosols in atmospheric fine particulate matter in the North China Plain, *Sci. Total Environ.*, 650, 2939–2950, doi:10.1016/j.scitotenv.2018.09.325, 2019.

Yoo, K., Lee, T. K., Choi, E. J., Yang, J., Shukla, S. K., Hwang, S. and Park, J.: Molecular approaches for the detection and monitoring of microbial communities in bioaerosols: A review, *J. Environ. Sci.*, 51, 234–247, doi:10.1016/j.jes.2016.07.002, 2017.

Yttri, K. E., Lund Myhre, C. and Tørseth, K.: Les aérosols carbonés — un problème persistant, *Organ. Météorologique Mond.*, 58 (1), 54–60, 2009.

Yttri, K. E., Simpson, D., Bergström, R., Kiss, G., Szidat, S., Ceburnis, D., Eckhardt, S., Hueglin, C., Nøjgaard, J. K., Perrino, C., Pizzo, I., Prevot, A. S. H., Putaud, J.-P., Spindler, G., Vana, M., Zhang, Y.-L. and Aas, W.: The EMEP Intensive Measurement Period campaign, 2008–2009: characterizing carbonaceous aerosol at nine rural sites in Europe, *Atmospheric Chem. Phys.*, 19(7), 4211–4233, doi:10.5194/acp-19-4211-2019, 2019.

Zhang, H. and Wang, Z.: Advances in the Study of Black Carbon Effects on Climate, *Adv. Clim. Change Res.*, 2(1), 23–30, doi:10.3724/SP.J.1248.2011.00023, 2011.

Zhang, Q., Worsnop, D. R., Canagaratna, M. R. and Jimenez, J. L.: Hydrocarbon-like and oxygenated organic aerosols in Pittsburgh: insights into sources and processes of organic aerosols, *Atmospheric Chem. Phys.*, 5(12), 3289–3311, 2005.

Zhang, Q., Jimenez, J. L., Canagaratna, M. R., Allan, J. D., Coe, H., Ulbrich, I., Alfarra, M. R., Takami, A., Middlebrook, A. M., Sun, Y. L., Dzepina, K., Dunlea, E., Docherty, K., DeCarlo, P. F., Salcedo, D., Onasch, T., Jayne, J. T., Miyoshi, T., Shimojo, A., Hatakeyama, S., Takegawa, N., Kondo, Y., Schneider, J., Drewnick, F., Borrmann, S., Weimer, S., Demerjian, K., Williams, P., Bower, K., Bahreini, R., Cottrell, L., Griffin, R. J., Rautiainen, J., Sun, J. Y., Zhang, Y. M. and Worsnop, D. R.: Ubiquity and dominance of oxygenated species in organic aerosols in anthropogenically-influenced Northern Hemisphere midlatitudes: UBIQUITY AND DOMINANCE OF OXYGENATED OA, *Geophys. Res. Lett.*, 34(13), L13801, doi:10.1029/2007GL029979, 2007.

Zhu, C., Kawamura, K. and Kunwar, B.: Organic tracers of primary biological aerosol particles at subtropical Okinawa Island in the western North Pacific Rim: Organic biomarkers in the north pacific, *J. Geophys. Res. Atmospheres*, 120(11), 5504–5523, 2015.

Zhu, C., Kawamura, K., Fukuda, Y., Mochida, M. and Iwamoto, Y.: Fungal spores overwhelm biogenic organic aerosols in a midlatitudinal forest, *Atmospheric Chem. Phys.*, 16(11), 7497–7506, doi:10.5194/acp-16-7497-2016, 2016.

Chapitre 2 : Matériel et méthodes	59
1 Campagnes d'échantillonnage.....	59
1.1 Bases de données exploitées :.....	59
1.1.1 Bases de données disponibles sur la chimie l'aérosol :.....	59
1.1.2 Bases de données sur la déconvolution des sources d'émission de l'aérosol.....	63
1.1.2.1 Traitement statistique de base des séries de données	63
1.1.2.2 Sélection des variables d'entrée et estimation de leurs incertitudes.....	63
1.1.2.3 Définition de contraintes spécifiques	63
1.1.2.4 Profils des sources d'émission.....	64
1.1.3 Exploration des bases de données disponibles	64
1.2 Campagnes spécifiques à ce travail de thèse	65
2 Méthodologies d'analyse chimiques et microbiologiques	66
2.1 Caractérisation chimique des aérosols.....	66
2.2 Caractérisation moléculaire de la biodiversité microbienne par séquençage haut-débit, Metabarcoding.....	67
2.2.1 Prélèvements des échantillons.....	67
2.2.2 Optimisation du protocole d'extraction de l'ADN génomique à partir de prélèvements d'aérosols	68
2.2.3 Principe général de l'extraction d'ADN :.....	68
2.2.4 Prétraitement des échantillons.....	68
2.2.5 Extraction d'ADN	69
2.2.6 Principe d'amplification de l'extrait d'ADN par PCR	73
2.2.7 Identification des espèces microbiennes par séquençage à haut débit de l'ADN.....	74
2.3 Potentiel oxydant des particules atmosphériques d'origine biologique	77
2.3.1 Principes généraux des tests acellulaires utilisés.....	78
2.3.1.1 Le test au dithiothréitol (DTT)	78
2.3.1.2 Le test l'acide ascorbique	78
2.3.1.3 Le test à la dichlorofluorescéine (DCFH).....	79
2.3.2 Mesure du PO des bioaérosols	80
2.3.2.1 Sélection de microorganismes modèles et conditions de cultures.....	80
2.3.2.2 Adaptation et optimisation du test DTT aux particules biologiques	81

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

Pour répondre aux objectifs énumérés dans le chapitre introductif, ce travail de thèse repose sur l'exploitation d'une base de données unique de chimie globale et détaillée des aérosols, mais aussi sur des campagnes d'échantillonnage spécifiques et sur différentes méthodes expérimentales développées et/ou optimisées au sein de l'IGE. Ces méthodes ont permis d'étudier de façon simultanée et complémentaire les caractéristiques chimiques, microbiologiques ainsi que la toxicité et les impacts sanitaires potentiels des particules atmosphériques.

Il est à noter que les méthodologies utilisées pour caractériser chimiquement les aérosols seront présentées en détail dans les prochains chapitres, car elles font partie intégrante d'articles scientifiques déjà publiés et/ou soumis. Ainsi pour limiter les redondances, ce chapitre est décomposé en deux parties qui sont organisées comme suit :

- (1) Une première partie sur les différentes campagnes d'échantillonnage qui :
 - Rapporte une présentation synthétique des bases de données disponibles sur la caractérisation chimique et des sources d'émission (caractérisées par approche PMF) de l'aérosol ainsi que les méthodes statistiques employées pour explorer ces bases de données dans ce travail de thèse.
 - Rappelle brièvement les campagnes d'échantillonnage spécifiques à ce travail de thèse.
- (2) Une deuxième partie sur les aspects méthodologiques qui :
 - Rapporte de manière synthétique les méthodologies employées en routine à l'IGE pour la caractérisation chimique des aérosols.
 - Décrit de manière détaillée les méthodes analytiques spécifiques développées et/ou optimisées au cours de ce travail de thèse.

1 Campagnes d'échantillonnage

1.1 Bases de données exploitées :

1.1.1 Bases de données disponibles sur la chimie l'aérosol :

Comme illustré dans le Tableau 3, les jeux de données sur la caractérisation chimique des sucres primaires particuliers utilisés dans ce travail de thèse proviennent de plusieurs programmes et/ou de projets de recherche nationaux auxquels l'IGE a pris part lors de ces huit dernières années. La réalisation de ces divers projets a impliqué de nombreux partenaires de l'IGE, entre autres plusieurs AASQA (voir Tableau 3), l'INERIS, le LCSQA, l'IMT Lille Douai, le LCME, le LCE, l'ANDRA, etc.

La Figure 16 présente la localisation géographique des 28 sites d'études pour lesquels des mesures de sucres primaires sur au moins une année civile complète étaient disponibles pour la présente étude (Figure 16). Le Tableau 3 et la Figure 17 résument les principales caractéristiques des sites de mesure investigués, y compris les AASQA en charge des sites, la typologie et l'altitude des sites, la période de collecte et le nombre d'échantillons analysés par site. Les sites ainsi sélectionnés sont répartis sur l'ensemble du territoire national français et offrent une grande diversité de typologies, incluant entre autres des sites de fonds ruraux, urbains, ou encore des sites influencés par le trafic routier.

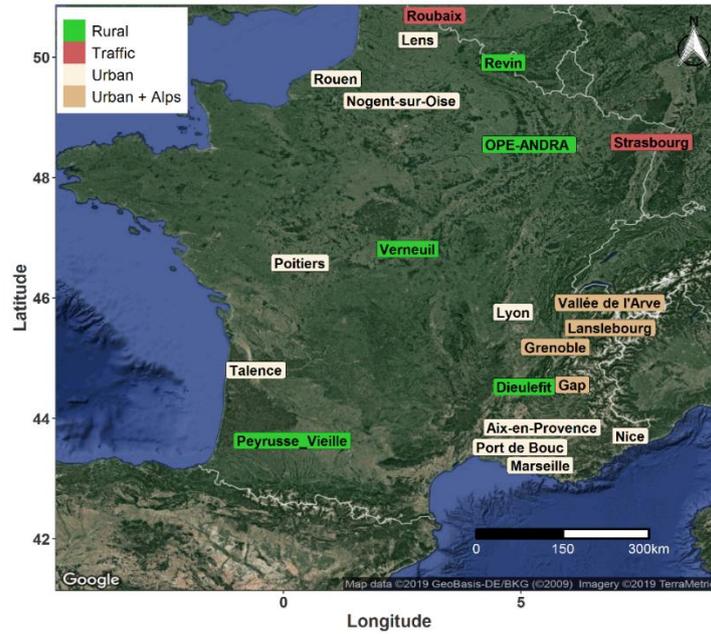


Figure 16 : Localisation des 28 sites de mesure exploités dans le cadre de ce travail de thèse. La ville de Grenoble (Grenoble_CB, Grenoble_LF et Grenoble_VF) et la vallée de L'Arve (Passy, Marnaz et Chamonix) comprennent chacun 3 sites de mesure. La ville de Marseille comprend 4 sites de mesure : Marseille, Mallet, Gardanne et Meyreuil. Le code couleur indique les caractéristiques du site : jaune doré pour urbain (13), jaune doré foncé pour urbain dans région alpine (8), vert pour rural (5) et rouge pour trafic (2)

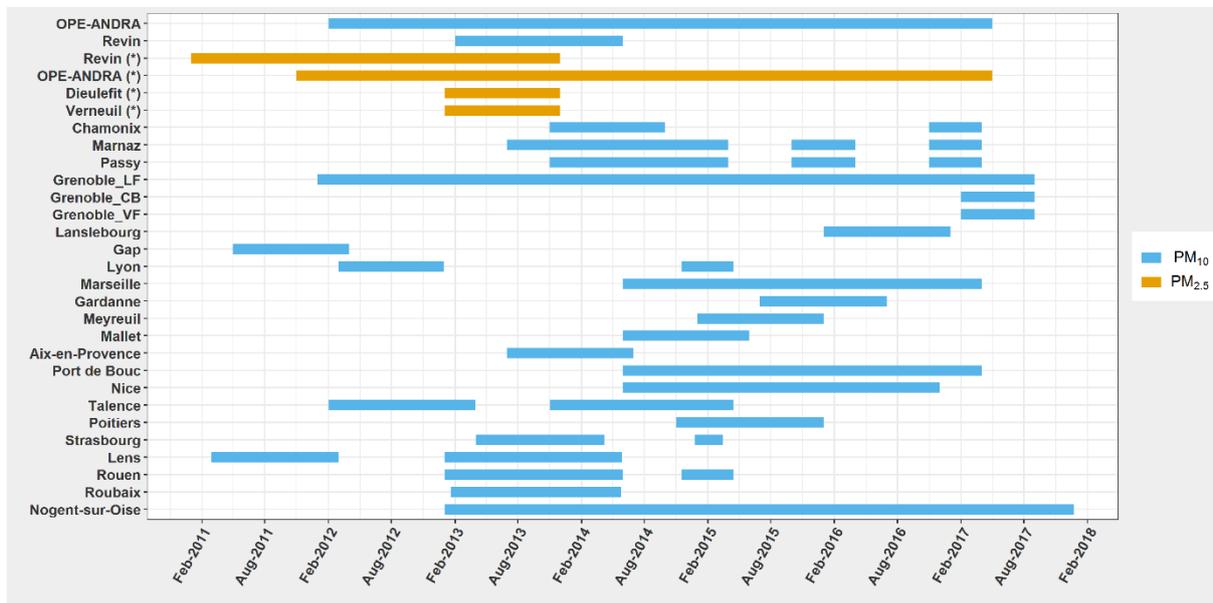


Figure 17 : Périodes de campagnes d'échantillonnage de PM sur l'ensemble des 28 sites d'étude investigués dans cette étude.

Comme mentionné ci-dessous, les aérosols ont été collectés très majoritairement dans le cadre de collaborations avec plusieurs AASQA (Tableau 3). Ainsi, la plupart des prélèvements d'aérosols ont été effectués directement par les AASQA à l'aide de leurs outils de collecte (échantillonneurs gravimétriques de type DIGITEL DA-80) et suivant un protocole de gestion des échantillons défini en commun. L'échantillonnage par les AASQA est effectué selon les normes européennes EN 16450:2017 et EN 12341:2014. Ainsi, à l'exception des PM₁₀ collectées sur le site de l'OPE-ANDRA, des filtres journaliers (24 h) de PM₁₀ et/ou PM_{2.5} ont été collectés sur des filtres en fibre de quartz pour l'ensemble des sites et généralement à raison de 1 jour sur 3. A l'OPE-ANDRA, les PM₁₀ ont généralement été

collectées à raison de 1 jour sur 6, sauf pendant la période de l'été 2017 où une campagne intensive journalière a été menée (le détail de cette campagne est présenté dans le chapitre 5).

Avec des jeux de données disponibles à minima pour un cycle annuel complet de la dynamique des sucres primaires sur 28 sites d'études et plus de 5 800 échantillons analysés, ce travail rapporte la plus grande base de données (tant pour les résolutions temporelles que spatiales) qui permettra sans doute de mieux décrire la phénoménologie atmosphérique de cette classe de molécules chimiques. Au final, cette base de données offre une opportunité unique de caractériser les dynamiques spatiales et temporelles à haute résolution (i.e., journalière) de la concentration atmosphérique des sucres primaires mesurés pour une très grande diversité de sites en termes de conditions climatiques, de types et couverture végétales, d'occupation des sols, etc.

Tableau 3 : Principales caractéristiques des sites d'étude. Le symbole (+) indique les sites pour lesquels des données d'analyse de PM étaient disponibles pour cette étude.

Sampling site	Altitude (m)	PM fraction	AASQA in charge of sampling sites	Program	N° of Samples	PMF analysis	Site typology
OPE-ANDRA	293	PM ₁₀	OPE-ANDRA	ANDRA	266		Rural
OPE-ANDRA	293	PM _{2.5}	OPE-ANDRA	ANDRA	310		Rural
Peyrusse Vieille	175	PM ₁₀	ATMO Occitanie	SOURCES; CAMERA	59		Rural
Revin	395	PM ₁₀	ATMO Grand-Est	SOURCES; CAMERA, CARA	168	+	Rural
Revin	395	PM _{2.5}	ATMO Grand-Est	Site EMEP PM2.5	162		Rural
Dieulefit	550	PM _{2.5}	ATMO AuRA	Site EMEP PM2.5	56		Rural
Verneuil	180	PM _{2.5}	LIG' AIR	Site EMEP PM2.5	60		Rural
Chamonix	1035	PM ₁₀	ATMO AuRA	DECOMBIO; SOURCES	120	+	Urban
Marnaz	504	PM ₁₀	ATMO AuRA	DECOMBIO; SOURCES	203	+	Urban
Passy	588	PM ₁₀	ATMO AuRA	DECOMBIO; SOURCES	344	+	Urban
Lanslebourg	1400	PM ₁₀	ATMO AuRA	Lanslebourg 1 et 2	82		Urban
Grenoble_LF	214	PM ₁₀	ATMO AuRA	QAMECS; SOURCES; MOCOPO; CARA	714	+	Urban
Grenoble_CB	212	PM ₁₀	ATMO AuRA	QAMECS	72		Urban
Grenoble_VIF	310	PM ₁₀	ATMO AuRA	QAMECS	72		Urban
Gap	743	PM ₁₀	AIR PACA	EMEP; ALCOTRA	125		Urban
Lyon	160	PM ₁₀	ATMO AuRA	SOURCES; CARA; hiver14-15	172	+	Urban
Marseille	64	PM ₁₀	AIR PACA	3 villes; SOURCES	255	+	Urban
Gardanne	212	PM ₁₀	AIR PACA	Eon	88		Urban
Meyreuil	235	PM ₁₀	AIR PACA	Eon	91		Urban
Mallet	200	PM ₁₀	AIR PACA	Eon	96		Urban
Port-de-Bouc	1	PM ₁₀	AIR PACA	3 villes; SOURCES	242	+	Urban
Aix-en-Provence	188	PM ₁₀	AIR PACA	Part'aera; SOURCES	177	+	Urban
Nice	9	PM ₁₀	AIR PACA	3 villes; SOURCES	228	+	Urban
Talence	20	PM ₁₀	ATMO Nouvelle-Aquitaine	SOURCES; hiver14-15; CARA ; AirAq Talence	159	+	Urban
Poitiers	0	PM ₁₀	ATMO Nouvelle-Aquitaine	SOURCES; CARA; hiver14-15	134	+	Urban
Lens	47	PM ₁₀	ATMO Hauts-de-France	SOURCES; CARA	118	+	Urban
Rouen	6	PM ₁₀	ATMO Normandie	CARA; hiver14-15	169	+	Urban
Roubaix	10	PM ₁₀	ATMO Hauts-de-France	CARA; hiver14-15	168	+	Urban
Strasbourg	139	PM ₁₀	ATMO Grand-Est	SOURCES; hiver14-15 ; CARA	120	+	Traffic
Nogent-sur-Oise	28	PM ₁₀	Hauts-de-France	SOURCES; CARA	458	+	Subrban

1.1.2 Bases de données sur la déconvolution des sources d'émission de l'aérosol

La déconvolution et la quantification des contributions des différentes sources d'émissions à la masse des PM sur un site récepteur peuvent être effectuées par une approche PMF (positive matrix factorisation), qui utilise en données d'entrée, la spéciation chimique de la concentration journalière des PM collectées sur un site récepteur. Un précédent travail dans le cadre des projets SOURCE et DECOMBIO (Chevrier, 2017; Favez et al., 2016; Weber et al., 2019) avait appliqué une méthodologie de traitement de données de type PMF harmonisée sur un ensemble de jeux de données relatif à la spéciation chimique des PM₁₀ collectées sur seize sites de typologies différentes sélectionnés parmi ceux précédemment décrits (Tableau 3). Ce travail d'harmonisation est précieux car il permet d'assurer la comparabilité inter-sites des résultats (Weber et al., 2019). Les étapes de cette analyse PMF homogène sont similaires à celles détaillées dans le chapitre 4, et seulement ses principales étapes méthodologiques sont synthétisées ci-dessous :

1.1.2.1 Traitement statistique de base des séries de données

Le traitement statistique inclut différentes étapes, allant du remplacement des valeurs inférieures à la limite de détection (LD) par $\frac{LD}{2}$; puis le remplacement des valeurs manquantes par la moyenne géométrique sur la période de l'étude considérée et enfin l'identification des points extrêmes grâce aux statistiques de Grubbs, qui permettent de détecter les valeurs aberrantes selon leur dispersion autour de la moyenne (ce test est basé sur l'hypothèse que les données suivent une loi normale centrée réduite). Dans le cadre des projets SOURCE et DECOMBIO, une valeur aberrante obtenue pour plusieurs espèces chimiques a été traitée en excluant l'échantillon correspondant, alors qu'une valeur aberrante pour une espèce chimique a été traitée en invalidant cette mesure et en la remplaçant par la moyenne géométrique des valeurs de la série de donnée.

1.1.2.2 Sélection des variables d'entrée et estimation de leurs incertitudes

Dans les analyses PMF, les variables d'entrée sont les concentrations atmosphériques des espèces chimiques ainsi que leurs incertitudes. Ces variables ont été sélectionnées en se basant sur le pourcentage de valeurs supérieures aux LD (seuil minimal fixé à 60%) et sur la valeur du ratio signal sur bruit (S/N) pour chaque espèce chimique. Les variables d'entrée de la PMF retenues dans le cadre de ces deux projets sont détaillées dans le chapitre 4. Ces variables comprennent notamment l'EC, des marqueurs organiques (les sucres anhydrides tels que le lévoglucosan le mannosan ; les polyols, l'acide méthylsulfonique (MSA), les hopanes, etc.), des éléments métalliques et traces, etc. Les variables ainsi sélectionnées ont été classées dans le modèle en se basant sur leur ratio signal/bruit moyen comme suit : « fortes » si $S/N > 2$, ou faibles si $0.2 \leq S/N \leq 2$, ou encore mauvaises si $S/N < 0.2$. Les incertitudes liées aux variables classées « faibles » ont été sous-pondérées et les variables classées « mauvaises », sur un site donné, ont été exclues de la liste de variables d'entrée du modèle PMF.

Par ailleurs, la variable PM₁₀ a été classée dans le modèle comme variable totale (incertitude augmentée d'un facteur 3 permettant de réduire son influence dans la solution) afin de pouvoir déterminer directement la contribution des sources identifiées aux concentrations de PM₁₀.

Enfin, un important travail a également été mené pour harmoniser l'estimation des incertitudes des différentes variables en suivant la méthodologie proposée par Gianini et al. (2012). Plus de détails sur l'estimation de ces incertitudes sont proposées dans le chapitre 4.

1.1.2.3 Définition de contraintes spécifiques

Comme nous l'avons vu plus tôt dans le chapitre introductif, l'une des limites de la PMF est liée à une possible colinéarité de facteurs en raison de phénomènes de co-émissions ou de co-évolution, conduisant à des difficultés à bien séparer les sources. Afin de s'affranchir de ce problème, des

contraintes (forçage doux ou « soft pulling » en anglais) menant à un résultat fiable et robuste, sans pour autant forcer le modèle vers une solution explicite, ont été appliquées sur les espèces caractérisant les profils chimiques (matrice F) des facteurs identifiés par l'approche PMF (Weber et al., 2019). Le choix des contraintes s'est porté sur les espèces chimiques dont la présence dans un facteur n'avait aucune réalité géochimique, ou sur les espèces chimiques dont la présence pouvait améliorer l'identification du facteur. L'ensemble des contraintes spécifiques qui ont été appliquées est présenté dans le chapitre 4 (Table SI-4).

1.1.2.4 Profils des sources d'émission

L'identification des profils de facteurs en sources d'émission a été réalisée grâce aux marqueurs chimiques spécifiques de sources d'émissions (Table SI-5). Ainsi, l'application du modèle PMF a permis d'identifier plusieurs sources (détaillé dans le chapitre 4) récurrentes sur la majorité des sites, telles que la combustion de biomasse, le trafic routier, le nitrate-rich, le sulfate-rich, les biogéniques secondaires marins, les sels marins frais et/ou vieillis et les poussières minérales (Figure SI-33). Deux autres sources minoritaires spécifiques, vraisemblablement associées à des sources locales, ont été exclusivement identifiées sur quelques sites : émissions industrielles (sur 5 sites) et résidus de combustion de fuel lourd (sur 3 sites) (Weber et al., 2019).

Par ailleurs, l'utilisation d'un nouveau traceur moléculaire organique (les polyols) rarement utilisé dans les études précédentes a permis l'identification et la quantification des sources biogéniques spécifiques aux émissions primaires (Chevrier, 2017; Favez et al., 2016; Weber et al., 2019). La contribution et la composition de cette source ont finement été explorées dans le cadre de ce travail de thèse dans l'objectif d'évaluer l'importance massique des aérosols organiques biogéniques primaires (PBOA) sur une grande échelle spatiale (i.e., nationale) et déterminer de manière robuste l'empreinte chimique associée à cette source.

Au cours de ce travail de thèse, ces données de caractérisation chimique et des sources d'émission de l'aérosol ont été complétées, sur les sites où cela était possible de mesures des principaux paramètres météorologiques et/ou environnementaux, i.e., la température, le vent, l'humidité, la pluviométrie, l'ensoleillement, ainsi que l'indice de surface foliaire, etc. (Chapitres 4 et 5).

1.1.3 Exploration des bases de données disponibles

Le couplage de cette base de données sur la caractérisation des sources avec celle sur la spéciation chimique des aérosols mesurées pour un grand nombre de sites répartis sur l'ensemble du territoire national est d'un intérêt capital car il permet d'améliorer nos connaissances sur les principales sources de sucres primaires (et du PBOA), les processus dominants conduisant à leurs émissions dans l'atmosphère ainsi que les paramètres environnementaux qui déterminent leur niveau de concentration dans l'atmosphère.

Pour cela, plusieurs analyses exploratoires des données faisant ressortir d'une part, les relations robustes pouvant exister entre les différents sucres primaires, ainsi que les autres molécules chimiques co-émises simultanément, avec les traceurs moléculaires de la source PBOA. D'autre part, les tendances spatiales pouvant exister entre ces molécules chimiques à plusieurs échelles géographiques (locale à nationale) ont été identifiées dans le cadre de ce travail de thèse. L'ensemble des méthodes exploratoires employées seront détaillées dans les prochains chapitres et seulement les principales méthodes statistiques employées sont brièvement présentées ci-dessous :

- Dans un premier temps, un simple traitement statistique a été effectué pour tenir compte des valeurs inférieures aux LD et/ou manquantes. L'approche utilisée est similaire à celle présentée dans la section 1.1.3.

- Des tests de Shapiro–Wilk ont été effectués sur les jeux de données brutes afin de déterminer si les concentrations des espèces chimiques sur un site donné suivent une loi normale centrée réduite. Cela est important notamment pour le choix des approches statistiques à appliquer.
- Des statistiques descriptives univariées (telles que la moyenne, la médiane, les quantiles, etc.) ont été calculées afin de faire ressortir les tendances saisonnières et spatiales générales. Des tests post hoc de comparaisons multiples non paramétrique (ex., Kruskal-Wallis), entre groupes indépendants pour évaluer la significativité statistique des tendances observées.
- Des statistiques descriptives bivariées (ex., corrélation non paramétrique, régression linéaire simple, etc.) ont également été appliquées afin de déterminer les similarités de sources et/ou de stabilité atmosphérique entre les différentes espèces chimiques.
- La base de données sur la caractérisation des sources d'émission de l'aérosol permet d'accéder à l'ensemble des espèces chimiques associées à la source PBOA. Dans ce contexte, une approche mono-traceur qui utilise les concentrations des espèces chimiques indicatrices et des équations empiriques reposant sur les ratios entre espèces chimiques spécifiques a été employée afin d'estimer la contribution des différents facteurs à la source PBOA.
- Les séries journalières des concentrations brutes observées sur chaque site sélectionné ont été ré-analysées par les modèles ARMA (modèle autorégressif et moyenne mobile) et/ou ARIMA (modèle autorégressif à moyenne mobile intégrée), qui permettent de décomposer et résumer une série temporelle stationnaire (comme les séries journalières de la concentration des polluants atmosphériques) en deux paramètres que sont le **coefficient autorégressif** (qui suppose que la concentration observée à la date j est une fonction linéaire des valeurs précédentes), et un coefficient de **moyenne mobile** (i.e. la moyenne pondérée d'un certain nombre de valeurs antérieures).
- Afin de faire ressortir les tendances spatiales (géographiques) associées aux séries temporelles des concentrations des espèces chimiques, différents algorithmes de classification, supervisée ou non (telles que K-means, clustering hiérarchique, DBSCAN (*density-based spatial clustering of applications with noise*), ACP), ont été appliqués sur les sorties des modèles ARMA/ARIMA, ou encore sur les concentrations (et ratio entre espèces) moyennes mensuelles et saisonnières.
- Un algorithme de cross-corrélation normalisée a également été employé afin d'investiguer la synchronisation des séries temporelles de concentrations. Cette méthode est particulièrement intéressante car elle permet de retrouver les corrélations entre deux séries temporelles d'amplitudes très différentes.
- Enfin, les liens potentiels entre la concentration chimique des espèces et les paramètres environnementaux ou météorologiques ont été investigués grâce au modèle de régression linéaire multiple.

L'ensemble de ces analyses exploratoires a été réalisé sous le logiciel R en utilisant des packages disponibles via la plateforme dédiée au logiciel (<https://www.r-project.org/>).

1.2 Campagnes spécifiques à ce travail de thèse

En complément des bases de données présentées dans la section 1.1, des campagnes d'échantillonnage spécifiques à ce travail ont également été réalisées afin de caractériser les communautés de microorganismes atmosphériques (empreintes ADN) qui contrôlent les concentrations de sucres primaires contenus dans les particules atmosphériques. Ces campagnes d'échantillonnage ont été réalisées durant les périodes d'été 2017 et 2018, couvrant ainsi les deux premières années de ce travail de thèse. Une première campagne intensive de prélèvement journalier de PM_{10} a été réalisée pendant l'été 2017 (du 12 juin au 21 août) sur le site rural de l'observatoire pérenne de l'environnement (OPE-ANDRA). L'OPE-ANDRA est un site de grandes cultures. Une description détaillée de ce site d'étude ainsi que de la campagne d'échantillonnage est présentée dans la première partie du chapitre 5. Afin d'étudier les sources et processus d'émissions de sucres primaires contenus dans les PM_{10} , des prélèvements hebdomadaires des sols superficiels dominants autour du préleveur d'aérosols ont également été effectués parallèlement aux collectes de PM_{10} . Des échantillons de feuilles des cultures

dominantes n'ont été prélevées qu'une seule fois quatre semaines après la fin de la période d'échantillonnage de PM₁₀ et de sols.

Dans un second temps, il s'agissait de déterminer si les concentrations atmosphériques de sucres primaires sont associées à des microorganismes ubiquiste (« *core species* ») (i.e., ayant une distribution géographique très variée) ou localisée (« *satellite species* ») d'un point de vue régional, tel que défini par Hanski (1982). Pour cela, une seconde campagne multi-sites a été réalisée pendant l'été 2018 sur trois sites d'études contrastés en termes de typologie et de conditions climatiques. Forts de nos observations de l'été 2017, des prélèvements de PM₁₀ et de feuilles ont été réalisés sur les 3 sites d'études. La fréquence et la durée de cette campagne pour chacun des sites d'étude sont indiquées dans le Tableau 4.

Tableau 4: Fréquence et durée de la campagne d'échantillonnage sur chacun des sites d'étude à l'été 2018.

Sites	OPE-ANDRA	Marseille 5 avenue	Grenoble les Frênes
Typologie du site	Rural	Urbain sous l'influence de la méditerranée	Urbain sous influence des Alpes
PM ₁₀	Hebdomadaire	Journalier	Journalier
feuilles	Hebdomadaire	Hebdomadaire	Hebdomadaire
Périodes	14/05 au 30/08	05/07 au 25/07	23/06 au 31/08

Par manque de chance, les échantillons de feuilles collectées sur le site de l'OPE-ANDRA ont été perdus par les services postaux lors de leur transport vers le laboratoire en septembre 2018. Par conséquent, nous n'avons malheureusement pas pu suivre la dynamique temporelle des microorganismes endophytes et épiphytes de ce site d'étude.

2 Méthodologies d'analyse chimiques et microbiologiques

2.1 Caractérisation chimique des aérosols

Le parc analytique employé en routine à l'IGE et/ou en collaboration avec des partenaires permet d'acquérir la spéciation chimique globale des particules atmosphériques ainsi qu'une spéciation fine de la fraction organique de l'aérosol à partir d'un même prélèvement sur filtre. Pour permettre cette diversité analytique sur un même prélèvement, les filtres ont été découpés en différentes fractions à l'aide de poinçonneurs en acier inoxydable de différentes surfaces (allant de 0.20 cm² à 11.34 cm²) et réservées ensuite à chaque type d'analyse tel que le montre la Figure 18.

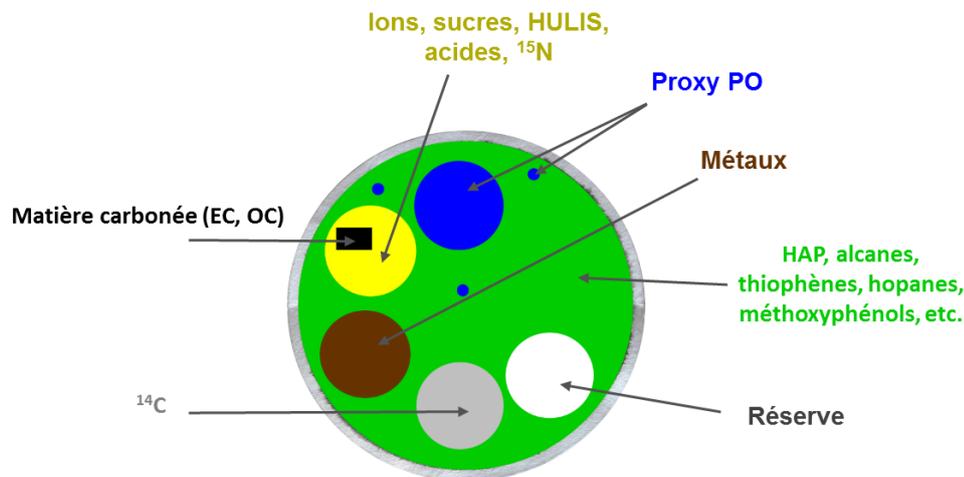


Figure 18 : Schéma représentant les fractions de filtres réservées pour les différentes analyses chimiques spécifiques réalisées sur chaque filtre de prélèvement d'aérosols.

Les outils analytiques et les conditions opératoires sont similaires à ceux décrits en détail dans les chapitres 4 et 5. Ainsi, seule une présentation synthétique des techniques d'analyses instrumentales déployées pour la caractérisation des familles d'espèces chimiques investiguées dans cette étude est proposée ici :

La matière carbonée globale : l'analyse de la matière carbonée (i.e., le carbone organique (OC) et le carbone élémentaire (EC)) est réalisée en routine à l'IGE à l'aide d'une méthode thermo-optique par transmission grâce à un analyseur EC/OC Sunset Lab (Birch and Cary, 1996) et en suivant la méthode EUSAAR2 (Cavalli et al., 2010). Pour séparer l'OC de l'EC, les échantillons sont soumis à différents plateaux de température (allant jusqu'à 850°C) soit sous une atmosphère d'hélium pour vaporiser les espèces organiques présentes dans l'OC soit sous une atmosphère oxydante pour vaporiser l'EC. Les gaz ainsi formés sont ensuite oxydés en CO₂, puis réduits en méthane (CH₄) sur platine pour une détection précise par un détecteur à ionisation de flamme.

Les sucres : les polyols (ex., arabitol, mannitol, sorbitol, etc.), les saccharides (ex., glucose, tréhalose, etc.) et les monosaccharides anhydres (ex., lévoglucosan, mannosan, galactosan) sont également analysés en routine à l'IGE par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) équipée de trois colonnes Metrosep (Carb 1-Guard + A Supp 15-150 + Carb 1-150) et couplée à un détecteur ampérométrique pulsé (PAD) (Waked et al., 2014).

La fraction ionique : l'analyse de la fraction ionique se fait en routine en phase aqueuse par chromatographie ionique Dionex ICS300 (Jaffrezo, 1987; Waked et al., 2014). La séparation des anions est réalisée sur une colonne Dionex AS11HC constituée d'une résine chargée positivement et en mode gradient. La séparation des cations est, quant à elle, réalisée sur une colonne CS16 Dionex chargée négativement, en mode isocratique.

Les métaux et les éléments traces : les métaux, métalloïdes et les éléments traces sont analysés par spectroscopie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) Elan 6100 DRC Perkin Elmer par un laboratoire partenaire proposant une prestation d'analyse chimique (Tera Environnement). Cette méthode analytique permet une analyse multiéléments rapide et précise d'échantillons en solution après leur digestion acide totale.

2.2 Caractérisation moléculaire de la biodiversité microbienne par séquençage haut-débit, Metabarcoding

Le « barcoding moléculaire » ou « *DNA barcoding* » encore appelé « code-barres ADN » en français est une technique de taxonomie moléculaire qui consiste à utiliser un fragment standard du génome comme marqueur génétique pour l'identification et la discrimination génétique d'un individu ou d'un groupe d'individus (Dubrulle and Giraud, 2017). Le metabarcoding est une extension du « *DNA barcoding* » qui permet en aveugle et en une fois, l'identification de toutes les espèces présentes dans un échantillon environnemental complexe (ex. sédiments, sol, excréments, etc.). Cette approche repose sur un principe en quatre étapes (Taberlet et al., 2012b, 2018): (i) le prélèvement d'un échantillon représentatif du site d'étude, (ii) l'extraction de l'ADN, (iii) l'amplification d'un fragment d'ADN standard commun à tous les individus d'un groupe taxonomique donné (ex. les bactéries, les champignons, les plantes, etc.) et qui est suffisamment variable pour pouvoir discriminer les différentes espèces au sein du groupe taxonomique, (iv) l'identification des espèces présentes en comparant les marqueurs avec une base de référence (ex. la base de donnée publique mise à disposition par le Laboratoire Européen de Biologie Moléculaire, « EMBL »). Ces différentes étapes sont décrites de manière plus détaillée ci-après :

2.2.1 Prélèvements des échantillons

Le lecteur pourra se référer à la section 1.2 et au Chapitre 5 pour plus de détails sur les prélèvements d'échantillons.

2.2.2 Optimisation du protocole d'extraction de l'ADN génomique à partir de prélèvements d'aérosols

L'utilisation de la technique de metabarcoding de l'ADN pour caractériser la composition taxonomique journalière et/ou hebdomadaire de plusieurs types d'échantillons (PM₁₀, sols, feuilles) prélevés sur les différents sites d'étude sélectionnés était l'une des originalités de ces travaux de thèse. Cette caractérisation moléculaire de l'abondance et de la biodiversité sont dépendantes de la qualité d'extraction initiale de l'ADN. La mise en œuvre de cette technique pour les échantillons d'aérosols collectés sur filtres a toutefois été très complexe et assez longue pour plusieurs raisons :

- La masse de PM échantillonnable sur un filtre (surface = 153,94 cm²) de prélèvement journalier est faible (généralement de l'ordre de quelques dizaines à quelques centaines de milligrammes) (Jiang et al., 2015), et une multitude d'autres analyses (EC/OC, la spéciation organique détaillée, les métaux, les éléments ioniques, le PO, etc.) sont nécessaires sur le même filtre (Weber et al., 2018, 2019).
- Il n'existe pas actuellement de kit commercial standard pour extraire l'ADN génomique contenu dans les PM collectées sur les filtres de prélèvements d'aérosols. Les kits commerciaux traditionnels et les méthodes classiques ne sont pas adaptés en général pour extraire l'ADN contenus dans des particules atmosphériques collectées sur des filtres (Dommergue et al., 2019; Luhung et al., 2015).
- Pour cette étude, les PM ont été collectées sur des filtres en quartz (Tissuquartz PALL QAT-UP 2500) qui sont en silice, un matériau qui présente une très forte affinité pour l'ADN (Cao et al., 2014; Jiang et al., 2015; Taberlet et al., 2018), rendant très difficile, voire impossible dans certains cas, son extraction par des kits commerciaux classiques. A noter que d'autres types de filtres (ex. les filtres en fibre de verre, de cellulose, etc.) existent dans le commerce, cependant notre choix du type de filtre de prélèvement a été contraint par le fait que la séparation de la fraction carbonée des PM (i.e., EC et OC) se base sur leurs différentes propriétés thermiques et optiques. En effet, les échantillons sont soumis à différents plateaux de température pouvant monter jusqu'à 850°C (Cavalli et al., 2010), sans que le filtre de prélèvement ne fonde. De plus, il est nécessaire de calciner (500°C pendant 4h au minimum) les filtres avant leur usage afin de limiter les éventuels problèmes de contamination (Dommergue et al., 2019).

Pour ces raisons, nous avons dû développer une approche optimisée afin d'extraire l'ADN génomique en quantité et en qualité suffisante pour pouvoir appliquer la technique de metabarcoding de manière fiable et reproductible.

2.2.3 Principe général de l'extraction d'ADN :

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'extraire de l'ADN à partir d'un échantillon environnemental complexe en quantité et qualité suffisante pour permettre son analyse. La première étape de l'extraction est la lyse cellulaire par différentes voies selon la méthode choisie : voie mécanique (ex. broyage des cellules en présence de billes de quartz, de tungstène, de verre ; lyse hypotonique, etc.), thermique, chimique (détergents : ex. SDS, etc.) ou enzymatique (ex. lysozyme, protéinase k, etc.) (Fröhlich-Nowoisky et al., 2017; Taberlet et al., 2018; Zinger et al., 2016). L'ADN est ensuite purifié, i.e., les autres composés (ex. débris cellulaires, protéines, ARN, etc.) ou les inhibiteurs chimiques (ex. substances humiques) sont éliminés pour ne pas interférer dans la réaction de polymérisation. L'étape de purification peut se faire notamment par élution de l'échantillon dans une colonne (généralement un pont de silice) ne retenant que l'ADN (Taberlet et al., 2012a; Zinger et al., 2016).

2.2.4 Prétraitement des échantillons

Pour cette étude, il a été nécessaire d'apporter plusieurs améliorations techniques pour optimiser l'extraction de l'ADN génomique présent dans les PM.

Compte tenu des interactions fortes entre la silice et les biomolécules, les particules collectées sur les filtres en quartz ont d'abord été éluées dans du tampon phosphate saturé (PBS, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, 0.12 M; pH ≈ 8) par agitation orbitale douce à 250 rpm pendant 10 min. Cette étape a été adaptée de Taberlet et al. (2012a), qui ont montré que l'ADN extracellulaire contenu dans les sols s'adsorbent sur les particules de silice chargées négativement via leurs ponts phosphates et/ou cationiques (England et al., 2004; Taberlet et al., 2012a, 2018). Ces auteurs ont également démontré que la quantité de molécules d'ADN adsorbées diminue drastiquement en présence de PBS, ce qui indique une compétition forte entre l'ADN et le phosphate saturé (Saeki et al., 2010; Taberlet et al., 2012a, 2018). Ainsi, ce prétraitement permet de séparer les particules biologiques collectées sur les filtres en quartz grâce aux compétitions fortes entre la silice et le PBS pour les matériels biologiques chargés. De plus, ce prétraitement permet également de réduire la masse d'échantillon nécessaire et permet ainsi l'utilisation de kits commerciaux d'extraction d'ADN (Jiang et al., 2015).

Ensuite, les particules éluées ont été transférées vers une autre membrane en polyethersulphone (PES, Supor® 47mm 200, 0.2 µm, PALL, NY, U.S.), un matériau inerte pour les biomolécules (Cao et al., 2014; Jiang et al., 2015). Elles ont été incubées dans un bain marie à ultrason (fonctionnant à 50% de sa puissance) à 65°C pendant 30 min. La sonication, en plus de la température élevée aide à la lyse optimale des parois cellulaires épaisses (ex. spores fongiques et bactéries à Gram positif), qui pourraient ne pas être lysées efficacement par simple broyage mécanique aux billes. Ces conditions de température et de sonication ont été adaptées de Luhung et al. (2015). Ces auteurs ont démontré que le rendement d'extraction de l'ADN augmente progressivement au fur et à mesure que la température d'incubation augmente jusqu'au seuil de 65-70°C, et ont également observé une décroissance du rendement d'extraction au-delà de ce seuil de température (Figure 19). Ces conditions d'incubations « douces » permettent, sans pour autant dégrader la qualité de l'ADN, d'augmenter le rendement d'extraction d'un facteur de plus de dix (Dommergue et al., 2019; Jiang et al., 2015; Luhung et al., 2015).

Toutes les étapes de prétraitement se sont déroulées sous une hotte à flux laminaire et tous les consommables (PBS, eau milli-Q, etc.) et le matériel (pinces, scalpels, entonnoirs de filtrations, adaptateurs, verreries, etc.) a été stérilisé avant usage. Les pinces et scalpels ont été stérilisés à la flamme entre les analyses de deux échantillons différents.

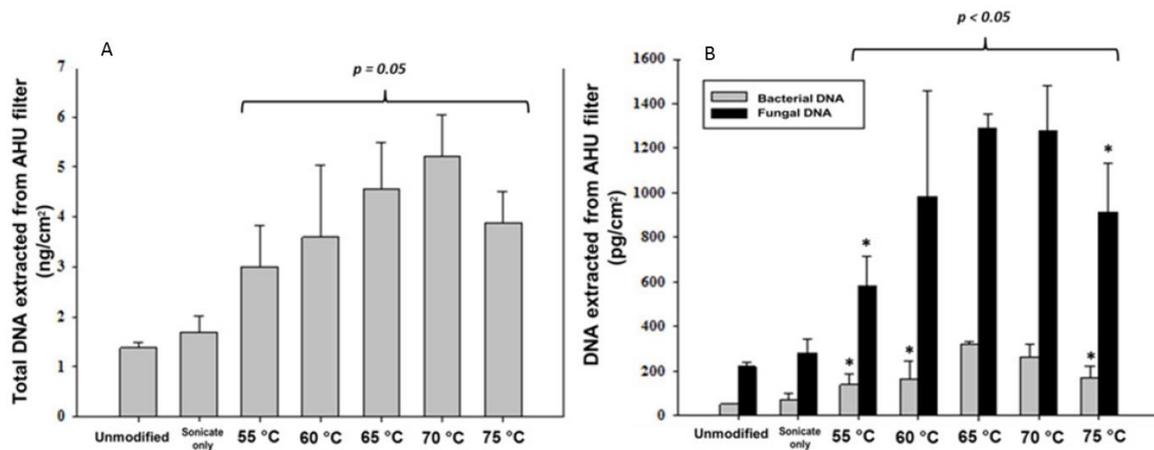


Figure 19: Evolution du rendement d'extraction de l'ADN total dans différentes conditions de température d'incubation et de sonication (adaptée de Luhung et al. 2015). A gauche, l'ADN total est quantifié au fluorimètre Qubit® et à droite, l'ADN bactérien et fongique est quantifié par PCR quantitative.

2.2.5 Extraction d'ADN

Divers kits d'extraction de l'ADN génomique pour l'analyse des échantillons environnementaux tels que les sols, les sédiments, les eaux usées, les tissus, etc. existent dans le commerce. A l'issue de la première étape de prétraitement, nous avons effectué des essais avec trois kits

standards : les kits de lyse E et A, commercialisés par MP Biomedicals et le kit DNeasy PowerWater, commercialisé par Qiagen.

Dans un premier temps, des essais ont été réalisés avec le kit de lyse E en suivant les consignes du fabricant. D'autres essais ont également été effectués en ajoutant des modifications mineures aux consignes du fabricant : 10 min de centrifugation supplémentaire après le broyage des filtres au broyeur automatique Fastprep (MP Biomedicals), pour récupérer le maximum de lysats ; une deuxième étape additionnelle de broyage avec 900 μ L de tampon de lyse ; ces deux produits ont été mélangés et utilisés pour les autres étapes de l'extraction. L'ADN génomique extrait dans les deux cas n'était ni détectable au fluorimètre Qubit ni détectable par qPCR. Ce kit contient des billes en silice qui peuvent potentiellement limiter le rendement d'extraction d'ADN pour les matrices déjà très pauvre en biomasse. Ainsi, pour limiter les interactions entre l'ADN et la silice, nous avons rajouté un tampon alcalin (CaCO_3 , 1M) dans le tube d'extraction et incubé le mélange pendant 60 min (Gandolfi et al., 2015). Malgré cette modification du pH, la concentration d'ADN extraite est restée inférieure aux seuils de détection par qPCR et au Qubit.

Dans un second temps, des essais ont également été réalisés avec le kit de Lyse A en suivant les consignes du fabricant. Ce kit contient des billes de broyage en céramique, un matériau inerte chimiquement et qui ne se lie pas aux acides nucléiques. L'utilisation de ce kit a permis d'extraire de l'ADN détectable par qPCR pour certains échantillons (Figure 20), mais les concentrations sont toujours restées en dessous de la limite de quantification du Qubit ($\text{LQ} \geq 10 \text{ pg}/\mu\text{L}$).

Enfin, des essais ont également été réalisés avec le kit DNeasy PowerWater. Des modifications mineures ont été apportées aux consignes du fabricant : 5 min de broyage avant et après l'incubation des échantillons dans un bain marie à ultrason pendant 30 min ; puis l'extrait d'ADN a été élué dans 50 μ L de tampon EB. Comme illustré dans la Figure 20, ce protocole nous a permis d'extraire et purifier suffisamment d'ADN de bonne qualité pour pouvoir appliquer les techniques d'analyses moléculaires nécessaires à notre étude (i.e., qPCR, metabarcoding).

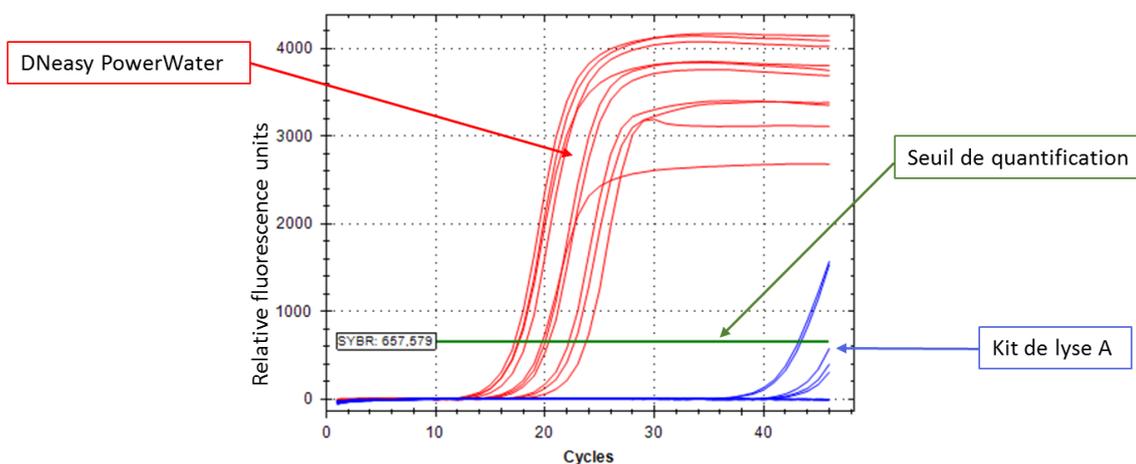


Figure 20: Exemple de courbes d'amplification de l'ADN génomique bactérien (ciblant la région hypervariable ADNr 16S (V4)) contenu dans des échantillons de PM_{10} et extrait par les kits DNeasy PowerWater et le Lysing matrice A.

Ainsi, ces développements méthodologiques m'ont permis de mettre au point en début de thèse un protocole fiable, indispensable pour la caractérisation taxonomique des échantillons de PM. L'optimisation de ce protocole a été relativement longue (près de 6 mois) du fait des nombreuses contraintes techniques rencontrées (un condensé de celles-ci est présenté dans la section 2.2.2). Un schéma simplifié du protocole final est présenté dans la Figure 21.

Ce protocole optimisé nous a permis d'extraire généralement entre 10^4 jusqu'à 10^6 copies d'ARNr bactérien par m^{-3} d'air à partir des prélèvements journaliers de PM_{10} . Des résultats similaires

ont aussi été obtenus en amplifiant la région nucléaire interne transcrite qui cible le gène de l'ARNr 18S fongique.

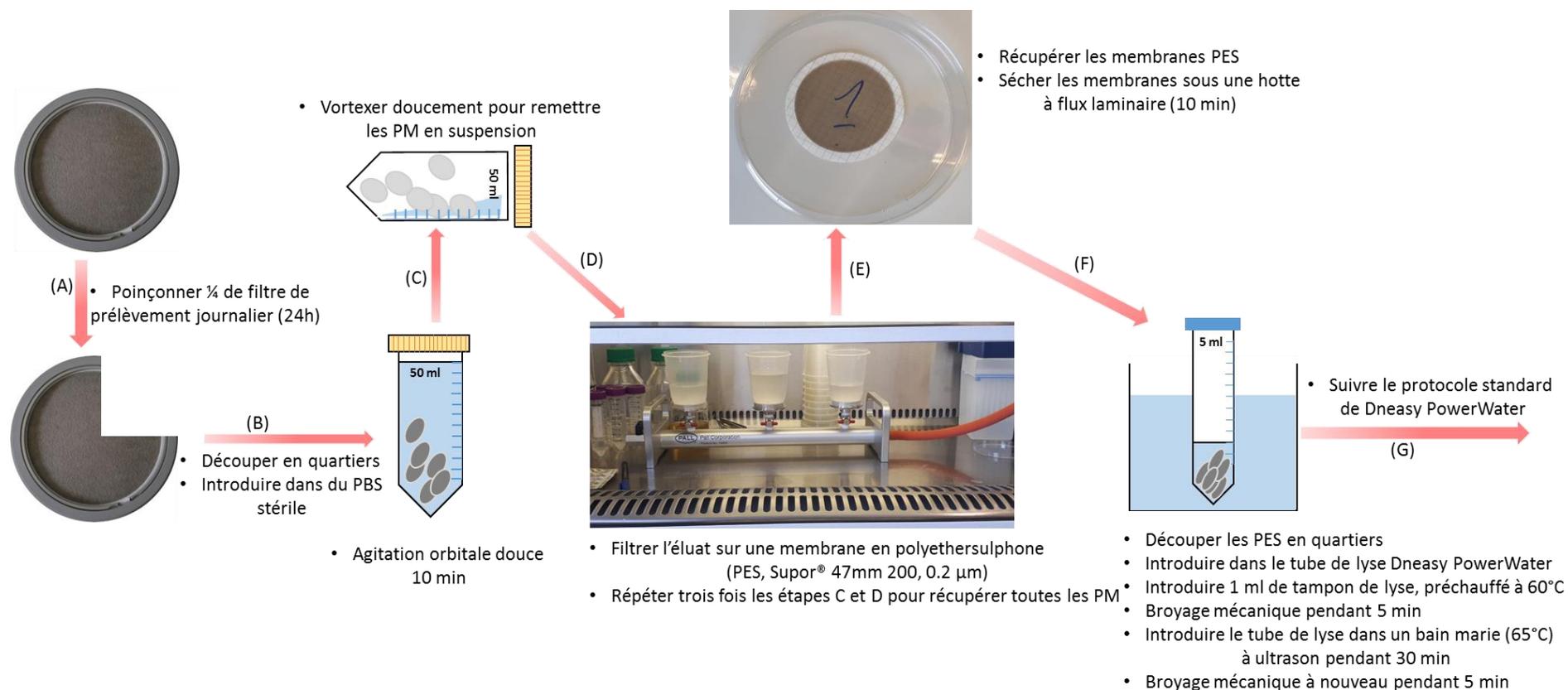


Figure 21 : Schéma récapitulatif simplifié du protocole optimisé pour l'extraction d'ADN génomique des particules atmosphériques. Toutes les étapes sont effectuées sous hotte à flux laminaire. Un tampon PBS frais et stérile est préparé tous les jours pour éviter les contaminations.

2.2.6 Principe d'amplification de l'extrait d'ADN par PCR

L'amplification de l'ADN extrait s'effectue par la réaction de polymérisation en chaîne (PCR pour Polymerase Chain Reaction). Pour les études de phylogénie, elle repose sur l'amplification spécifique d'une région de l'ADN commune à un groupe taxonomique donné (ex. bactéries, champignons, etc.). Elle consiste à rajouter à la préparation d'ADN contenant la séquence à amplifier deux amorces⁵ complémentaires respectivement de l'un et de l'autre des deux brins d'ADN matrice au niveau de séquences délimitant la longueur du fragment qui sera amplifié (Taberlet et al., 2018). L'amplification est réalisée en trois étapes successives : la dénaturation qui sépare l'ADN matrice double brin en simple brin, l'hybridation qui consiste à la fixation des amorces sur l'ADN matrice simple brin et l'élongation réalisée par l'ADN polymérase à partir des amorces. Ce cycle est reproduit généralement 25 à 45 fois (Taberlet et al., 2018). L'intérêt est qu'à partir d'un échantillon environnemental complexe et peu abondant en ADN, une importante quantité d'un fragment d'ADN matrice est amplifiée, soit de l'ordre de 2^{n+1} ; avec n le nombre de cycles (Figure 22).

La PCR en temps réel ou qPCR est une variante de la PCR, qui présente l'avantage de pouvoir quantifier en temps réel la charge totale en ADN spécifique et/ou génomique dans les échantillons environnementaux. Le suivi de l'amplification se fait grâce à l'émission d'un signal fluorescent dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'amplicons (i.e., fragments d'ADN amplifiés) générés au fur et à mesure des cycles de PCR (Figure 20).

⁵ L'amorce est une courte séquence d'ARN ou ADN (une vingtaine de nucléotide), complémentaire du début d'une matrice d'ADN, servant de point de départ à la synthèse du brin complémentaire de cette dernière matrice par une ADN polymérase

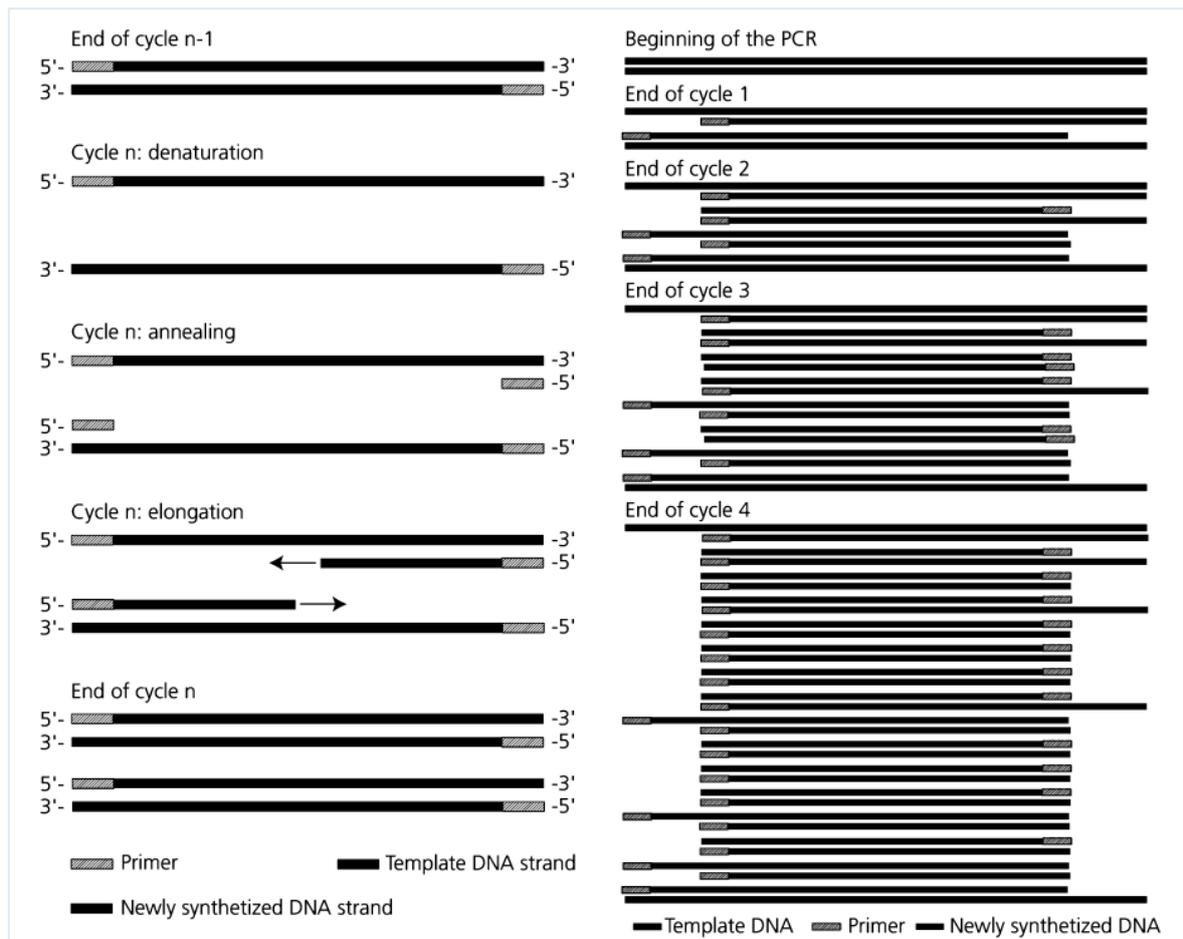


Figure 22 : Les 3 étapes de la réaction de polymérisation en chaîne de l'ADN (à gauche) et les nouveaux brins d'ADN générés au cours des quatre premiers cycles de la PCR (à droite) d'après Taberlet et al. 2018.

Dans le cadre de la technique de metabarcoding, il est possible d'utiliser des combinaisons différentes d'amorces taguées pour chaque échantillon pendant l'étape de l'amplification, autrement dit, les amplicons peuvent être marqués avec une combinaison de codes-barres propre à chaque échantillon. Ceci permet de multiplexer (mélanger et séquencer ensemble) l'ADN de plusieurs d'échantillons marqués différemment et de retrouver à posteriori de quel échantillon les séquences proviennent (Taberlet et al., 2012b, 2018).

Le lecteur pourra se référer au chapitre 5 pour plus de détails sur les conditions opératoires mises en œuvre pour le metabarcoding dans le cadre de ce travail de thèse.

2.2.7 Identification des espèces microbiennes par séquençage à haut débit de l'ADN

Le séquençage de l'ADN désigne l'ensemble des techniques qui consistent à déterminer l'ordre d'enchaînement linéaire des bases (i.e., Adénine, Cytosine, Guanine et Thymine) prenant part à la structure de l'ADN (Lamoril et al., 2008). La connaissance de la séquence permet d'étudier l'information biologique contenue dans celle-ci. Basées sur l'unicité et la spécificité de la structure de l'ADN chez chaque individu, ces techniques permettent de déterminer la composition taxonomique d'un échantillon environnemental (Lamoril et al., 2008).

Le « séquençage à haut débit » ou « *High-throughput sequencing (HTS)* », également connu sous le nom de séquençage nouvelle génération (NGS), regroupe l'ensemble des technologies de séquençage développées dans les années 2000 en complément de la méthode de Sanger développée dans les années 1970. A l'heure actuelle, on différencie les technologies à haut débit de deuxième génération

qui permettent de séquencer des fragments courts, de celles dites de troisième génération permettant le séquençage d'une plus longue molécule d'ADN. Le marché du séquençage de deuxième génération est couvert par les trois grands groupes que sont Roche, Life Technologies et Illumina. Ils ont proposé de manière successive, leur première plateforme à savoir le 454, le SOLiD et enfin le Genome Analyser, respectivement. La plateforme d'analyse Genome Analyser de Illumina est actuellement le système de séquençage le plus largement utilisé, représentant plus de 70% du marché des NGS (Lu et al., 2016).

Pour ce travail de thèse, le séquençage de l'ADN génomique a été réalisé sur les amplicons préalablement purifiés pour éliminer les nucléotides, amorces et autres impuretés dans les produits PCR. Les amplicons sont des fragments d'ADN courts (ca. 200 bp) qui peuvent être séquencés en pleine longueur sur la plateforme MiSeq (Illumina). C'est ce séquenceur de deuxième génération et le protocole de lecture en sens et anti-sens 2x250 bp qui a été utilisé. Le séquençage a été réalisé chez Fasteris SA (Genève, Suisse) en très étroite collaboration avec le laboratoire d'Ecologie Alpine. Le séquençage haut débit se déroule en 3 étapes :

- **Préparation de la librairie**

La librairie est l'ensemble des régions d'intérêt de l'ADN que l'on désire séquencer. Pour cela, les produits PCR, mélangés en équivolume, sont soumis à une étape de ligation au cours de laquelle des fragments courts d'une taille prédéterminée sont générés (Figure 23). Puis des séquences adaptatrices propres au séquenceur sont rajoutées aux extrémités des fragments de la librairie à séquencer. L'ADN est dénaturé puis chaque brin est immobilisé sur une microplaque contenant les mêmes adaptateurs greffés, auxquels les amplicons se fixent par complémentarité. L'extrémité libre de chaque brin est ensuite fixée par hybridation aux amorces (complémentaires aux séquences des adaptateurs) qui couvrent la surface de la microplaque. Les fragments aspécifiques qui ne s'hybrident pas sont éliminés lors des processus de lavage (Taberlet et al., 2018).

- **Amplification**

L'amplification s'effectue sur un support solide (technologie Illumina) ou en émulsion (technologie Ion torrent). Une première étape de PCR convertit chaque fragment matrice précédemment hybridé sur le support en sa séquence complémentaire, ainsi les fragments en sens et anti-sens sont immobilisés sur la microplaque (Figure 23). Puis chaque fragment est amplifié en environ 1000 copies identiques pour former des « clusters » clonaux qui seront séquencés en parallèle. Cela permet au bout d'un nombre de cycle suffisant, d'obtenir le nombre d'amplicons par cluster nécessaire au séquençage (Figure 23).

Le séquençage de l'ADN est effectué par ajout de didéoxynucléotides marqués avec des fluorochromes. Ces didéoxynucléotides, substitués des nucléotides, bloquent l'ajout du nucléotide suivant. Ainsi, les nucléotides sont incorporés les uns après les autres et intercalés par des étapes de rinçages et clivages par la température. Lorsque le nucléotide complémentaire de la séquence d'ADN se fixe, il empêche un autre de se fixer à la suite. Les rinçages permettent d'éliminer les surplus de nucléotides non fixés et de détecter les signaux fluorescents des nucléotides complémentaires. Enfin le clivage va enlever l'extrémité bloquante, permettant ainsi de passer au nucléotide suivant selon le même schéma.

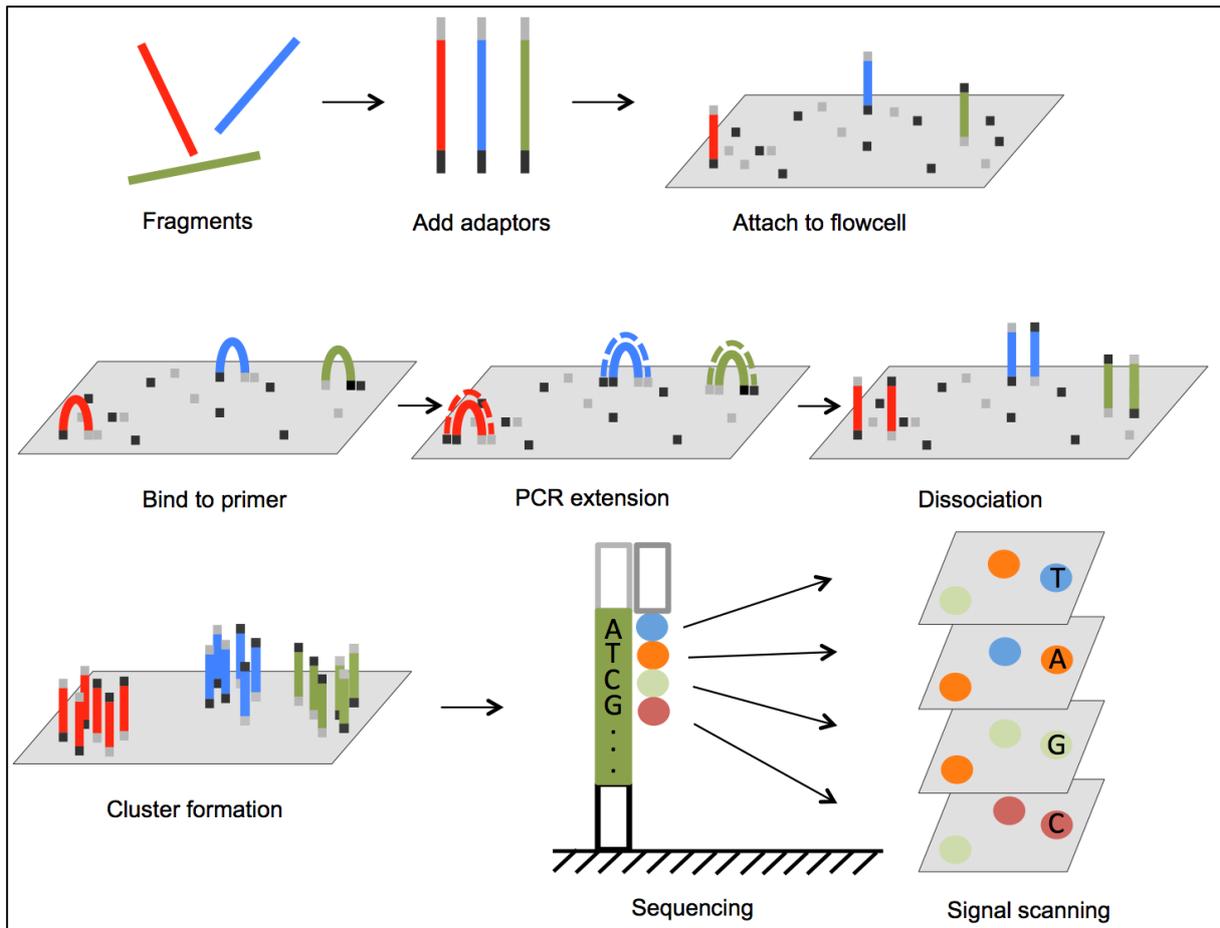


Figure 23: Résumé schématique des étapes du séquençage Illumina (adapté de Lu et al., 2016). (1) Fixation des adaptateurs aux extrémités des fragments d'amplicons. (2) Les fragments se lient de façon complémentaire aux adaptateurs disposés sur la microplaque et l'amplification en pont (« bridge PCR ») des fragments à séquençer pour générer des copies identiques de chaque fragment (« cluster »). (3) A chaque cycle du séquençage, un nucléotide marqué aux fluorochromes est incorporé aux brins en cours de synthèse et un scanner optique permet d'enregistrer le signal fluorescent associé.

○ Séquençage Illumina

Comme illustré dans la Figure 23, le séquençage Illumina est basé sur la détection de photons. A chaque cycle du séquençage, l'incorporation d'un nucléotide se traduit par un signal fluorescent associé à chacun des quatre nucléotides de l'ADN (Lu et al., 2016; Vilgis and Deigner, 2018). La lecture est possible car chaque nucléotide possède un marqueur fluorescent d'une couleur spécifique (Figure 23). Cela génère un grand jeu de données optiques qui sont ensuite converties en ordre d'enchaînement précis des nucléotides composant chaque séquence. Après plusieurs étapes de traitement bioinformatique, les amplicons ainsi séquençés sont comparés à des bases de références pour l'ADN bactérien ou fongique, permettant d'assigner les séquences à des lignages (allant du phylum à l'espèce) bactériens ou fongiques.

Dans le cadre de ce travail de thèse, les prétraitements bioinformatiques ont été réalisés par Aurélie Bonin (Laboratoire d'Ecologie Alpine, LECA) avec les outils OBITools (Boyer et al., 2016) et SUMATRA/SUMACLUST (Mercier et al., 2013) développés au sein du LECA. Les étapes de traitement bioinformatique des données de séquençage sont similaires à celles détaillées dans les matériels et méthodes du Chapitre 5. Ces étapes sont brièvement rappelées ci-dessous :

- Assemblage des séquences en 5' et 3' pour former des séquences consensus
- Assignation des séquences aux échantillons grâce aux combinaisons uniques de tags

- La déréplication des séquences : La même séquence peut apparaître plusieurs fois lors du séquençage metabarcoding. Après l'assignation des séquences aux échantillons, les lectures ayant une séquence strictement identique sont regroupées. Seul la séquence et le nombre de lectures correspondant à chaque individu sont gardés. Cela permet de réduire la taille des données et simplifie les processus de comparaison des séquences lors de l'étape suivante (Taberlet et al., 2018).
- Les séquences présentant une similarité d'au moins 97% sont regroupées en « *Unités Moléculaires Taxonomiques Opérationnelles (MOTUs)* ». La séquence la plus abondante est retenue comme la séquence représentant la MOTU.
- Les MOTUs sont assignées taxonomiquement en comparant la séquence représentative de la MOTU à une banque de données de séquences spécifiques à chaque marqueur (bactérie et champignon ici) employé.
- Enfin, trois étapes de nettoyage de données ont été mises en œuvre : l'élimination des séquences de mauvaise qualité (ex. séquences dégradés, chimères, etc.), l'élimination des singletons (MOTUs potentiellement contaminants, les erreurs liées à l'amplification par PCR) et l'élimination des faux positifs résultant du phénomène de « *tag-switching* ».

A la fin de ce processus, les lectures de duplicatas de PCR sont sommées pour chaque échantillon car la variabilité entre les réplicats biologiques est largement plus importante et plus intéressante que celle entre réplicats de PCR.

L'exploitation statistique et écologique de ces données a été réalisée avec les logiciels R (interface R-studio) et python 3. Une description détaillée de ces analyses statistiques est proposée dans le chapitre 5.

2.3 Potentiel oxydant des particules atmosphériques d'origine biologique

Comme nous l'avons vu succinctement dans le chapitre précédent, plusieurs tests acellulaires sont disponibles pour évaluer le PO des aérosols. Cependant, il est à noter que chaque test possède une certaine spécificité (ex. le test au dithiothréitol présente une réponse équilibrée aux composés organiques et inorganiques alors que celui à l'acide ascorbique est plus sensible aux métaux de transition) et aucun consensus n'est aujourd'hui proposé sur un test le plus représentatif des effets sanitaires réels des aérosols car le champ de recherche est encore très jeune (Ayres et al., 2008; Calas et al., 2017; Charrier and Anastasio, 2015; Visentin et al., 2016). Ainsi pour capturer toute l'information de ces tests, la communauté des chimistes et géochimistes atmosphériques s'oriente vers des combinaisons de tests pour obtenir les résultats les plus informatifs. C'est pourquoi la relation entre le PO et la spéciation de l'aérosol (chimique et biologique) est primordiale pour comprendre les caractéristiques du potentiel oxydant global et ses variations spatiales et temporelles (Calas, 2017; Calas et al., 2018; Weber et al., 2018).

Pour ce travail de thèse, trois tests (DTT, AA et DCFH), dont les principes sont détaillés ci-après, ont été choisis pour l'étude du PO de l'aérosol car ils sont simples à mettre en œuvre, reproductibles et complémentaires (Calas, 2017; Calas et al., 2018; Reiniers et al., 2017; Simonetti et al., 2018). Ces tests sont parmi les plus couramment utilisés dans littérature récente (Simonetti et al., 2018).

La démarche méthodologique a consisté à dans un premier temps à adapter et optimiser le test acellulaire au DTT afin de pouvoir évaluer le PO associé aux bioaérosols⁶ identifiés. En plus de sa sensibilité aux composés organiques, le choix du test DTT s'explique par le fait que c'est le test le plus couramment utilisé par les communautés de chimie atmosphérique et géochimie (Calas, 2017), facilitant

⁶ Les bioaérosols sont définis ici comme des particules atmosphériques contenant des microorganismes vivants (ex. les bactéries, les champignons, les virus, etc.) ou des substances ou produits provenant de ces organismes (ex. les microorganismes morts ou les fragments de microorganismes, les toxines, etc.).

ainsi la comparaison de nos résultats avec d'autres études. Dans un second temps, ce protocole optimisé a été employé avec les tests AA et DCFH pour confirmer nos observations avec le test DTT.

2.3.1 Principes généraux des tests acellulaires utilisés

2.3.1.1 Le test au dithiothréitol (DTT)

Le test acellulaire au DTT initialement décrit par Kumagai et al. (2002) et repris par Charrier and Anastasio (2012) a été développé pour évaluer le PO des composés chimiques contenus dans les aérosols testés. Ce test a été conçu pour simuler la production d'anions superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) *in vivo*. Le DTT est un fort réducteur ($E_{DTT_{ox}/DTT_{red}} = -0.33$ v) qui peut être assimilé aux agents réducteurs biologiques comme le NADH et NADPH (Simonetti et al., 2018; Verma et al., 2014) ou encore le glutathion (également un antioxydant de type thiol) (Luo et al., 2016; Sauvain et al., 2013). Lorsque le DTT_{red} est en contact avec les PM et en présence de dioxygène, le transfert d'un électron entre le DTT et le dioxygène est catalysé par les espèces redox actives des PM. Un anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) est ainsi produit, qui va se dismuter pour former le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), plus stable (Hedayat et al., 2015; Visentin et al., 2016). Le DTT est oxydé sous sa forme disulfide (DTT_{ox}). Cette réaction est illustrée dans la Figure 24 A.

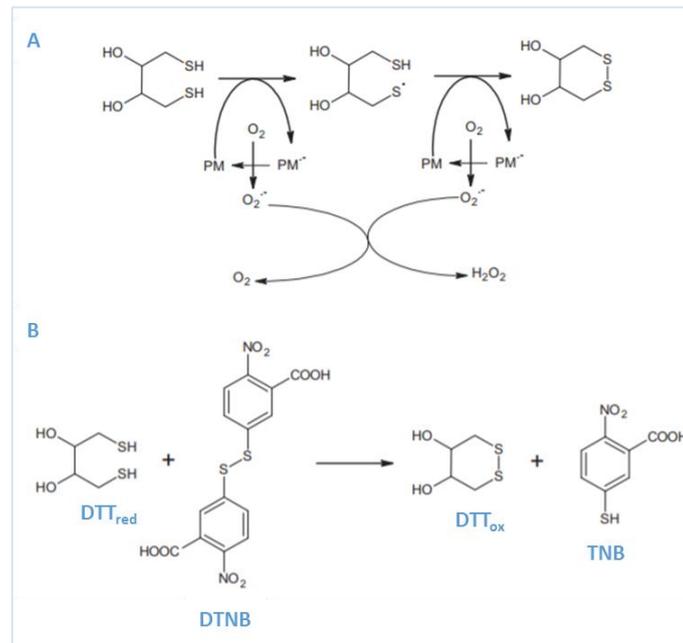


Figure 24 : (A) Oxydation du dithiothréitol (DTT) catalysée par les espèces redox-actives des PM et formation d'ERO (Espèces reactive de l'oxygène). (B) Dosage du DTT_{red} (forme réduite) par l'acide 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB) et formation de thionitrobenzoate (TNB), un composé jaunâtre (adaptée de Visentin et al., 2016). DTT_{ox} correspond à la forme oxydée du DTT.

Le test DTT consiste à suivre la cinétique d'oxydation du DTT par les espèces redox-actives induites et/ou portées par des PM. On utilise le DTNB (acide 5-5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque) pour stopper la réaction et titrer le DTT qui n'a pas été oxydé à différents temps ($t=0, 15$ et 30 min) (Calas, 2017; Calas et al., 2017, 2018). La réaction entre le DTT et le DTNB produit un composé jaune, le TNB (thionitrobenzoate) (Figure 24 B), dont le maximum d'absorption est à 412 nm. Les cinétiques de consommation du DTT sont réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre à microplaques (TECAN infinite M200 pro).

2.3.1.2 Le test l'acide ascorbique

L'acide ascorbique est un antioxydant physiologique (une forme de la vitamine C) et est naturellement présent dans les poumons (intra et extracellulaire) (Hedayat et al., 2015; Valko et al.,

2005). Ce test est généralement utilisé *in vivo* et *in vitro* pour évaluer le PO de certaines espèces métalliques présentes dans les aérosols (Hedayat et al., 2015). De même que pour le DTT, l'acide ascorbique est oxydé en acide déshydroascorbate pendant que les espèces redox-actives contenues dans les PM sont réduites. Ces espèces réduites peuvent alors transférer un électron à l'oxygène diatomique favorisant la formation d'ERO (Figure 25).

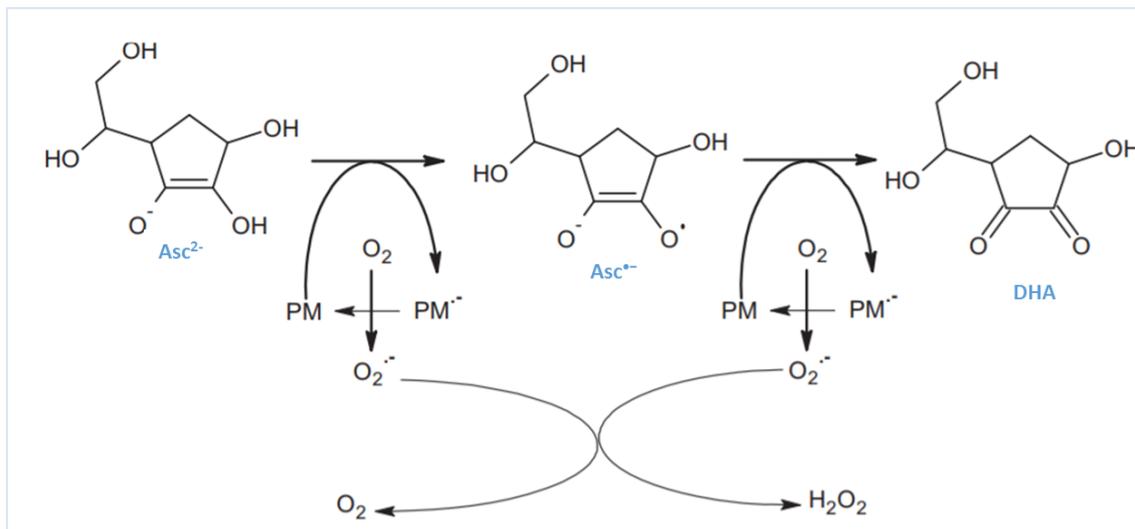


Figure 25 : Oxydation de l'acide ascorbique (AA) induite par les espèces redox-actives des PM et formation d'ERO (ascorbate : Asc^{2-} , radical ascorbyle : $Asc^{\bullet-}$ et acide déshydroascorbique : DHA) (adaptée de Visentin et al., 2016).

Le test AA consiste à suivre la cinétique de consommation de l'acide ascorbique par des mesures successives de l'absorbance à longueur maximale de l'AA ($\lambda_{\text{maximale}} = 265 \text{ nm}$). Ces mesures sont effectuées à $t=0$, $t=2$, $t=6$, puis toutes les 4 min pendant toute la réaction se déroulant en 30 min (Calas, 2017).

2.3.1.3 Le test à la dichlorofluorescéine (DCFH)

La 2',7'-dichlorofluorescéine diacétate ($DCFH_2\text{-DA}$) est un composé développé dans les années 1960 pour la mesure d'ERO, en particulier le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Hedayat et al., 2015; Keston and Brandt, 1965). La théorie liée à ce test est que la $DCFH_2$ est non fluorescente mais les dérivés issus de son oxydation (DCF, $\lambda_{\text{excitation}} = 503 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{émission}} = 523 \text{ nm}$) par les espèces redox actives (en particulier H_2O_2) en présence de peroxydase de raifort (HRP) sont hautement fluorescents (Figure 26) (Hedayat et al., 2015; Sauvain et al., 2013; Simonetti et al., 2018). La production d'ERO est alors évaluée par la mesure de l'intensité de fluorescence toutes les minutes pendant 30 min. L'intensité de la fluorescence mesurée est ensuite convertie en équivalent de H_2O_2 grâce à l'utilisation d'une courbe d'étalonnage.

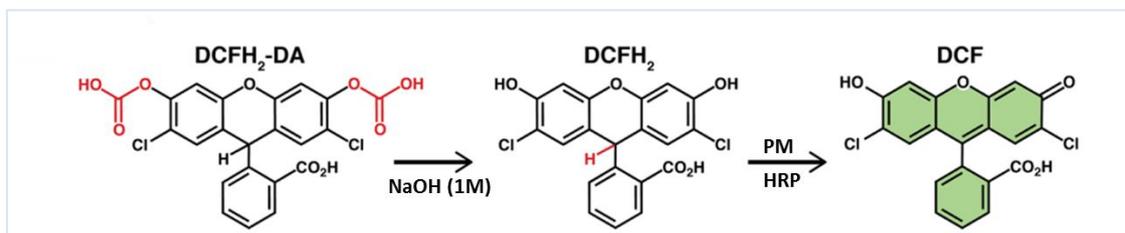


Figure 26 : Hydrolyse de la $DCFH_2\text{-DA}$ en milieu alcalin et mécanisme d'oxydation de la $DCFH_2$ en présence d'ERO (adaptée de Reiniers et al., 2017).

2.3.2 Mesure du PO des bioaérosols

2.3.2.1 Sélection de microorganismes modèles et conditions de cultures

Bien que l'abondance des bioaérosols soit variable d'un endroit à un autre, certaines espèces sont omniprésentes dans l'atmosphère (Bezerra et al., 2014; Chen, 2012; Fröhlich-Nowoisky et al., 2009; Pastuszka et al., 2000; Womack et al., 2015). Pour ce travail de thèse, nous avons sélectionné des espèces microbiennes fréquentes et bien représentées à la fois dans l'air extérieur (ambient) et intérieur. Les bioaérosols modèles utilisés sont les suivants :

- Espèces bactériennes : *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), *Pseudomonas fluorescens* (*P. fluorescens*), *Micrococcus sp.*
- Spores fongiques : *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*), *Aspergillus brasiliensis* (*A. brasiliensis*), *Penicillium sp.*, *Stachybotrys chartarum* (*S. chartarum*).

Le lecteur pourra se référer à la section Matériel et Méthodes du chapitre 6 pour plus de détail sur les caractéristiques ainsi que les conditions d'échantillonnage et de cultures des différentes espèces microbiennes utilisées.

Brièvement, afin de collecter les bioaérosols, des prélèvements d'air extérieur ou intérieur ont été réalisés en utilisant un impacteur inertiel à un étage (Andersen). Le principe de fonctionnement de cet appareil est basé sur l'impaction de microorganismes viables et cultivables sur un milieu de culture gélosé par passage de l'air aspiré à travers les orifices du plateau. Comme illustré dans la Figure 27, les cellules bactériennes et les spores fongiques ont été respectivement impactées sur les milieux de culture Trypticase Soja Agar (TSA, Biolife Italiana, Milan) et Malt Agar (MA, Biolife Italiana, Milan). Elles ont ensuite été incubées pendant 5 jours à 27°C.

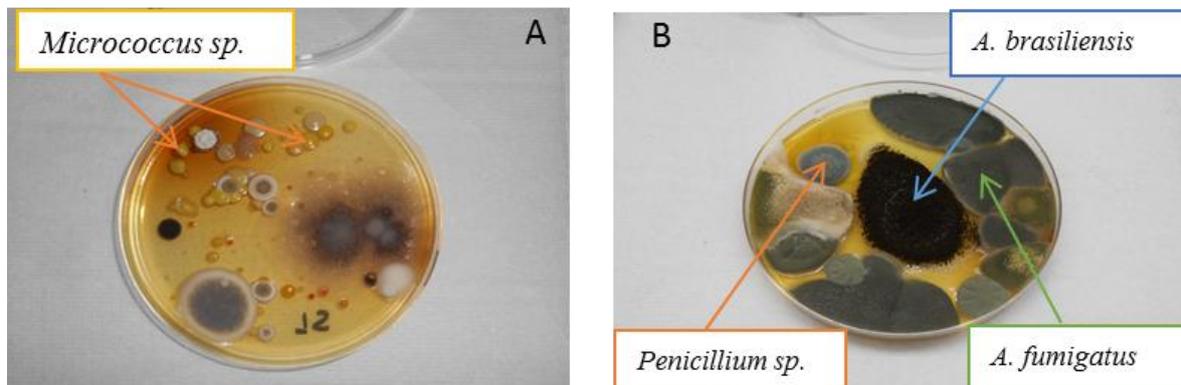


Figure 27 : Exemples de développement de cellules bactériennes (A) et de spores fongiques (B) respectivement impactées sur les milieux de culture TSA et MA.

Après leur développement, les microorganismes isolés et identifiés ont ensuite été repiqués sur une nouvelle boîte de culture afin d'obtenir des cultures pures de chacun d'eux (Figure 28).

Pour les bactéries, une colonie de chaque espèce précédemment isolée et identifiée a été inoculée dans 10 ml de milieu de culture nutritif Luria-Bertani (LB, Biolife Italiana, Milan). Cette suspension a ensuite été incubée pendant 2 jours sous agitation à 150 rpm, à 30 °C.

Pour les champignons, pour chaque espèce précédemment isolée et identifiée, une colonie a été repiquée sur le milieu de culture MA (Biolife Italiana, Milan). Le milieu de culture ainsiensemencé a été incubé à 30 °C, pendant 5 jours.

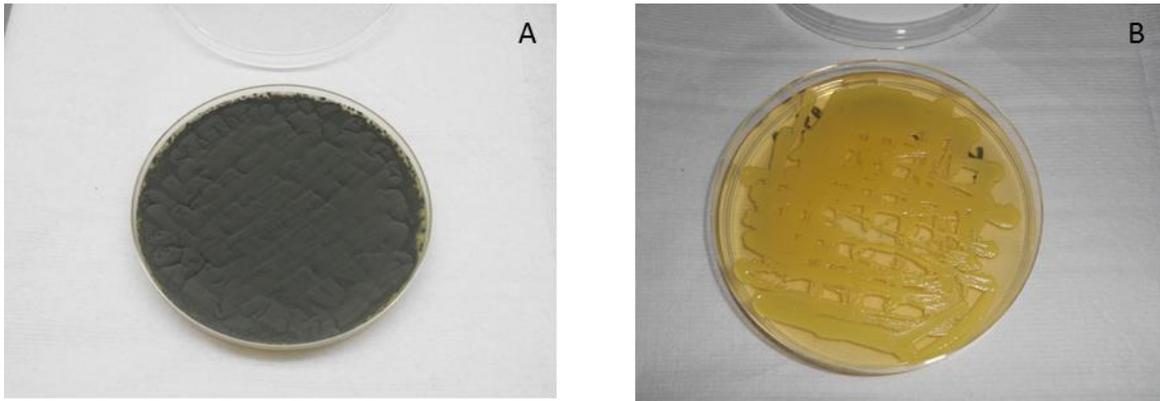


Figure 28 : Exemples de cultures spécifiques de microorganismes isolés et identifiés : (A) correspond à des spores d'*A. fumigatus* sur le milieu de culture MA et (B)= cellules de *Micrococcus* sp sur le milieu de culture TSA.

2.3.2.2 Adaptation et optimisation du test DTT aux particules biologiques

Ce test est basé sur le protocole initial de Cho et al. (2005) et de Charrier and Anastasio, (2012). Les travaux de thèse de Calas, (2017) au sein de l'IGE ont permis d'adapter ce protocole initial en microplaques à 48 et/ou 96 puits afin de pouvoir réaliser le suivi cinétique à l'aide d'un lecteur de microplaques. Cela a notamment permis le suivi automatisé des cinétiques de la réaction et d'augmenter le nombre d'échantillons analysés simultanément. Ce dernier protocole a été optimisé et adapté aux contraintes biologiques, et des changements significatifs ont été apportés notamment dans le prétraitement des échantillons.

Ces adaptations sont présentées en détail dans la section Matériel et Méthodes du chapitre 6 car ils font partie intégrante d'un article scientifique déjà publié. Les étapes des processus de prétraitement appliquées sont brièvement schématisées dans la Figure 29 ci-dessous.

Pour la mesure du PO associé aux spores fongiques (Figure 29, étape B), nous n'avons pas utilisé de milieu de culture biologique liquide car dans les expériences préliminaires, nous avons obtenu des structures filamenteuses (hyphes) qui étaient impossibles à manipuler. L'alternative retenue pour reprendre les spores fongiques est l'utilisation d'eau ultra-pure et déionisée stérile (Diogo et al., 2005).

Par ailleurs, les milieux de culture biologique contiennent un ensemble de composés chimiques réactifs, notamment des métaux de transition, capables de catalyser la déplétion d'antioxydants. Par exemple, le fer étant un métal redox actif et présent en forte quantité dans les milieux de culture biologiques, il participe très fortement à la consommation des réactifs utilisés lors du test DTT. Ainsi il était impossible de discriminer le potentiel oxydant inhérent aux particules biologiques lors du test.

Pour s'affranchir de ce problème, après culture, les bactéries ont été lavées trois fois avec du tampon phosphate préalablement purifié sur résine Chelex®100 afin de le débarrasser des impuretés métalliques et elles ont été reprises dans ce même tampon. Les spores fongiques ont été reprises dans de l'eau ultra-pure déionisée et stérile (Figure 29, étapes C et D). Ces deux milieux reconstitués avec des composés de qualité « trace grade analysis » ne contiennent pas d'éléments redox actifs susceptibles de dégrader la qualité des « blancs d'analyse » lors du test DTT, permettant ainsi une évaluation fiable du potentiel oxydant des bioaérosols modèles.

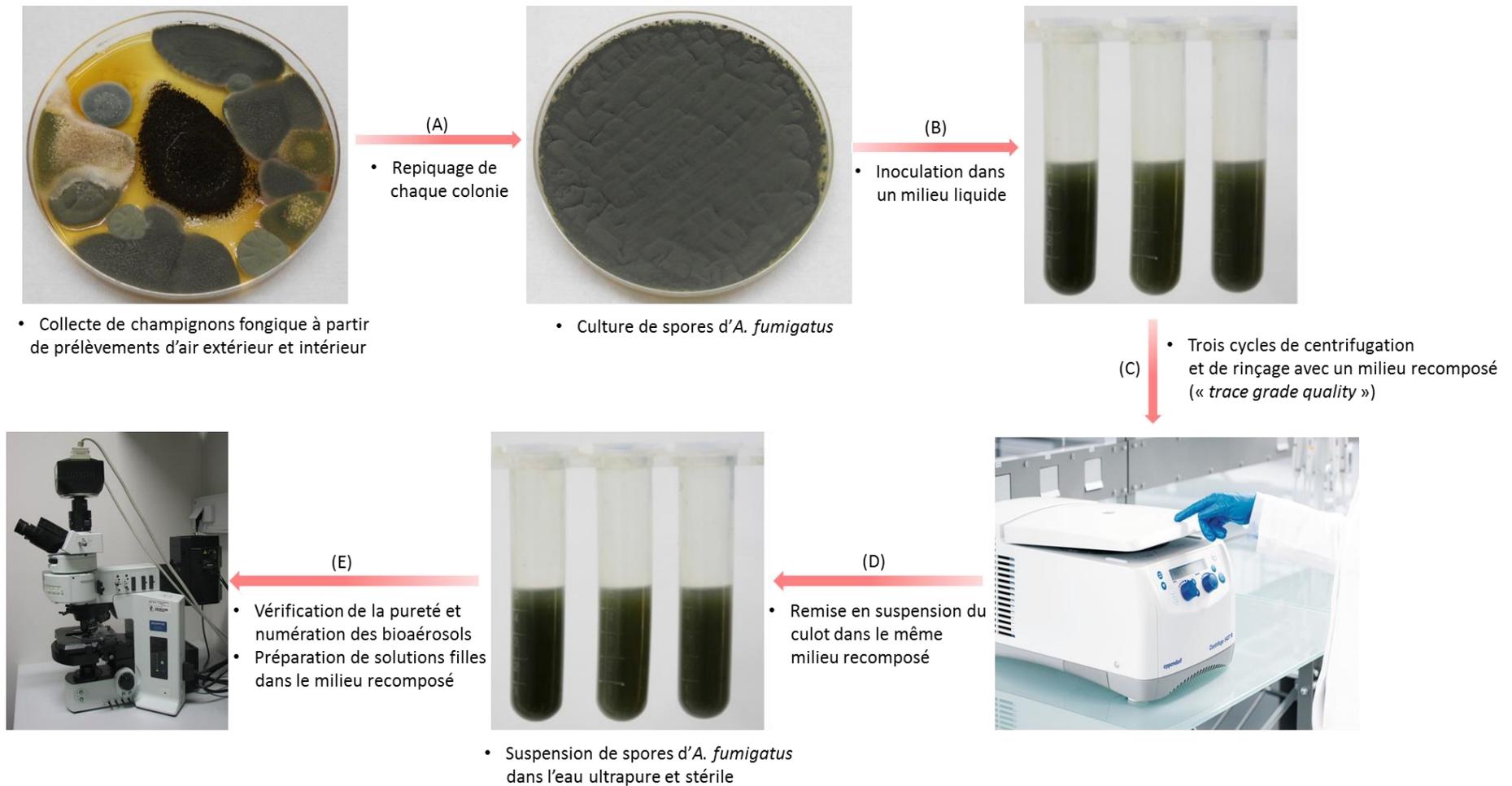


Figure 29 : Résumé schématique du prétraitement des bioaérosols modèles sélectionnés pour l'évaluation du potentiel oxydant des PM. Le détail des conditions opératoires est présenté dans la section matérielle et méthodes du chapitre 6.

Références

- Ayres, J. G., Borm, P., Cassee, F. R., Castranova, V., Donaldson, K., Ghio, A., Harrison, R. M., Hider, R., Kelly, F., Kooter, I. M., Marano, F., Maynard, R. L., Mudway, I., Nel, A., Sioutas, C., Smith, S., Baeza-Squiban, A., Cho, A., Duggan, S. and Froines, J.: Evaluating the Toxicity of Airborne Particulate Matter and Nanoparticles by Measuring Oxidative Stress Potential—A Workshop Report and Consensus Statement, *Inhal. Toxicol.*, 20(1), 75–99, doi:10.1080/08958370701665517, 2008.
- Bezerra, G. F. de B., Gomes, S. M., Silva Neto, M. A. C. da, Santos, R. M. dos, Muniz Filho, W. E., Viana, G. M. de C. and Nascimento, M. do D. S. B.: Diversity and dynamics of airborne fungi in Sao Luis, State of Maranhao, Brazil, *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 47(1), 69–73, doi:10.1590/0037-8682-0229-2013, 2014.
- Birch, M. E. and Cary, R. A.: “Elemental Carbon-Based Method for Monitoring Occupational Exposures to Particulate Diesel Exhaust, *Aerosol Sci. Technol.*, 25(3), 221–241, 1996.
- Boyer, F., Mercier, C., Bonin, A., Le Bras, Y., Taberlet, P. and Coissac, E.: OBITOOLS : a UNIX - inspired software package for DNA metabarcoding, *Mol. Ecol. Resour.*, 16(1), 176–182, doi:10.1111/1755-0998.12428, 2016.
- Calas, A.: Pollution atmosphérique particulaire : développement de méthodologies non-invasives et acellulaires pour l'évaluation de l'impact sanitaire, thesis, Grenoble Alpes, 21 December. [online] Available from: <http://www.theses.fr/2017GREAU033> (Accessed 9 July 2019), 2017.
- Calas, A., Uzu, G., Martins, J. M. F., Voisin, D., Spadini, L., Lacroix, T. and Jaffrezo, J.-L.: The importance of simulated lung fluid (SLF) extractions for a more relevant evaluation of the oxidative potential of particulate matter, *Sci. Rep.*, 7(1), 11617, doi:10.1038/s41598-017-11979-3, 2017.
- Calas, A., Uzu, G., Kelly, F. J., Houdier, S., Martins, J. M. F., Thomas, F., Molton, F., Charron, A., Dunster, C., Oliete, A., Jacob, V., Besombes, J.-L., Chevrier, F. and Jaffrezo, J.-L.: Comparison between five acellular oxidative potential measurement assays performed with detailed chemistry on PM10 samples from the city of Chamonix (France), *Atmospheric Chem. Phys.*, 18(11), 7863–7875, 2018.
- Cao, C., Jiang, W., Wang, B., Fang, J., Lang, J., Tian, G., Jiang, J. and Zhu, T. F.: Inhalable Microorganisms in Beijing's PM 2.5 and PM 10 Pollutants during a Severe Smog Event, *Environ. Sci. Technol.*, 48(3), 1499–1507, doi:10.1021/es4048472, 2014.
- Cavalli, F., Viana, M., Yttri, K. E., Genberg, J. and Putaud, J.-P.: Toward a standardised thermal-optical protocol for measuring atmospheric organic and elemental carbon: the EUSAAR protocol, *Atmospheric Meas. Tech.*, 3(1), 79–89, 2010.
- Charrier, J. G. and Anastasio, C.: On dithiothreitol (DTT) as a measure of oxidative potential for ambient particles: evidence for the importance of soluble transition metals, *Atmospheric Chem. Phys. Print*, 12(5), 11317–11350, doi:10.5194/acpd-12-11317-2012, 2012.
- Charrier, J. G. and Anastasio, C.: Rates of Hydroxyl Radical Production from Transition Metals and Quinones in a Surrogate Lung Fluid, *Environ. Sci. Technol.*, 49(15), 9317–9325, doi:10.1021/acs.est.5b01606, 2015.
- Chen, X.: Concentrations and Size Distributions of Airborne Microorganisms in Guangzhou during Summer, *Aerosol Air Qual. Res.*, doi:10.4209/aaqr.2012.03.0066, 2012.

- Chevrier, F.: Chauffage au bois et qualité de l'air en Vallée de l'Arve : définition d'un système de surveillance et impact d'une politique de rénovation du parc des appareils anciens, PhD thesis, Université Grenoble Alpes, 23 November. [online] Available from: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01527559/document>, 2017.
- Cho, A. K., Sioutas, C., Miguel, A. H., Kumagai, Y., Schmitz, D. A., Singh, M., Eiguren-Fernandez, A. and Froines, J. R.: Redox activity of airborne particulate matter at different sites in the Los Angeles Basin, *Environ. Res.*, 99(1), 40–47, doi:10.1016/j.envres.2005.01.003, 2005.
- Diogo, H. C., Sarpieri, A. and Pires, M. C.: Fungi preservation in distilled water Preservação de fungos em água destilada, *Bras Dermatol*, 80(6), 591–4, 2005.
- Dommergue, A., Amato, P., Tignat-Perrier, R., Magand, O., Thollot, A., Joly, M., Bouvier, L., Sellegri, K., Vogel, T., Sonke, J. E., Jaffrezo, J.-L., Andrade, M., Moreno, I., Labuschagne, C., Martin, L., Zhang, Q. and Larose, C.: Methods to Investigate the Global Atmospheric Microbiome, *Front. Microbiol.*, 10, 243, doi:10.3389/fmicb.2019.00243, 2019.
- Dubrulle, N. and Giraud, N.: Nouveautés techniques et industrielles, *Annales des falsifications, de l'expertise chimique & toxicologique*, 6, 2017.
- England, L. S., Vincent, M. L., Trevors, J. T. and Holmes, S. B.: Extraction, detection and persistence of extracellular DNA in forest litter microcosms, *Mol. Cell. Probes*, 18(5), 313–319, doi:10.1016/j.mcp.2004.05.001, 2004.
- Favez, O., Salameh, D. and Jaffrezo, J.-L.: Traitement harmonisé de jeux de données multi-sites pour l'étude de sources de PM par Positive Matrix Factorization (PMF) | LCSQA. [online] Available from: https://www.lcsqa.org/system/files/rapport/lcsqa2016-traitement_harmonise_etude_sources_pmf.pdf, 2016.
- Fröhlich-Nowoisky, J., Pickersgill, D. A., Després, V. R. and Pöschl, U.: High diversity of fungi in air particulate matter, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106(31), 12814–12819, doi:10.1073/pnas.0811003106, 2009.
- Fröhlich-Nowoisky, J., Amato, P., Renard, P., Brisebois, E. and Duchaine, C.: Quantification and Characterization of Bioaerosols (offline techniques), in *Microbiology of Aerosols*, pp. 49–82, John Wiley & Sons, Ltd., 2017.
- Gandolfi, I., Bertolini, V., Bestetti, G., Ambrosini, R., Innocente, E., Rampazzo, G., Papacchini, M. and Franzetti, A.: Spatio-temporal variability of airborne bacterial communities and their correlation with particulate matter chemical composition across two urban areas, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 99(11), 4867–4877, doi:10.1007/s00253-014-6348-5, 2015.
- Gianini, M. F. D., Fischer, A., Gehrig, R., Ulrich, A., Wichser, A., Piot, C., Besombes, J.-L. and Hueglin, C.: Comparative source apportionment of PM₁₀ in Switzerland for 2008/2009 and 1998/1999 by Positive Matrix Factorisation, *Atmos. Environ.*, 54, 149–158, doi:10.1016/j.atmosenv.2012.02.036, 2012.
- Hanski, I.: Dynamics of Regional Distribution: The Core and Satellite Species Hypothesis, *Oikos*, 38(2), 210–221, doi:10.2307/3544021, 1982.
- Hedayat, F., Stevanovic, S., Miljevic, B., Bottle, S. and Ristovski, Z. D.: Review -- Evaluating the Molecular Assays for Measuring the Oxidative Potential of Particulate Matter, EVALUIRANJE ADEKVATOSTI Mol. PROBA ZA MERENJE OKSIDATIVNOG POTENCIJALA RESPIRABILNIH CESTICA, 21(1), 201–210, doi:10.2298/CICEQ140228031H, 2015.

- Jaffrezo, J.-L.: Etude du lessivage des aerosols atmospheriques par les precipitations, thesis, Paris 7, 1 January. [online] Available from: <http://www.theses.fr/1987PA077211> (Accessed 25 July 2019), 1987.
- Jiang, W., Liang, P., Wang, B., Fang, J., Lang, J., Tian, G., Jiang, J. and Zhu, T. F.: Optimized DNA extraction and metagenomic sequencing of airborne microbial communities, *Nat. Protoc.*, 10(5), 768–779, doi:10.1038/nprot.2015.046, 2015.
- Keston, A. S. and Brandt, R.: The fluorometric analysis of ultramicro quantities of hydrogen peroxide, *Anal. Biochem.*, 11(1), 1–5, doi:10.1016/0003-2697(65)90034-5, 1965.
- Kumagai, Y., Koide, S., Taguchi, K., Endo, A., Nakai, Y., Yoshikawa, T. and Shimojo, N.: Oxidation of Proximal Protein Sulfhydryls by Phenanthraquinone, a Component of Diesel Exhaust Particles, *Chem. Res. Toxicol.*, 15(4), 483–489, doi:10.1021/tx0100993, 2002.
- Lamoril, J., Ameziane, N., Deybach, J.-C., Bouizegarène, P. and Bogard, M.: Les techniques de séquençage de l'ADN : une révolution en marche. Première partie, *Immuno-Anal. Biol. Spéc.*, 23(5), 260–279, doi:10.1016/j.immbio.2008.07.016, 2008.
- Lu, Y., Shen, Y., Warren, W. and Walter, R.: Next Generation Sequencing in Aquatic Models, in *Next Generation Sequencing - Advances, Applications and Challenges*, edited by J. K. Kulski, InTech., 2016.
- Luhung, I., Wu, Y., Ng, C. K., Miller, D., Cao, B. and Chang, V. W.-C.: Protocol Improvements for Low Concentration DNA-Based Bioaerosol Sampling and Analysis, edited by M. Yao, *PLOS ONE*, 10(11), e0141158, doi:10.1371/journal.pone.0141158, 2015.
- Luo, C., Sun, J., Sun, B., Liu, D., Miao, L., Goodwin, T. J., Huang, L. and He, Z.: Facile Fabrication of Tumor Redox-Sensitive Nanoassemblies of Small-Molecule Oleate Prodrug as Potent Chemotherapeutic Nanomedicine, *Small*, 12(46), 6353–6362, doi:10.1002/smll.201601597, 2016.
- Mercier, C., Boyer, F., Kopylova, E., Taberlet, P., Bonin, A. and Coissac, E.: SUMATRA and SUMACLUST: Fast and exact comparison and clustering of sequences, pp. 27–29., 2013.
- Norme EN 12341:2014: Ambient air - Standard gravimetric measurement method for the determination of the PM10 or PM2.5 mass concentration of suspended particulate matter, France. [online] Available from: <https://standards.globalspec.com/std/1688698/EN%2012341> (Accessed 24 July 2019), 2014.
- Norme EN 16450:2017: Ambient air - Automated measuring systems for the measurement of the concentration of particulate matter (PM10; PM2.5), France. [online] Available from: <https://standards.globalspec.com/std/10151729/ds-en-16450> (Accessed 24 July 2019), 2017.
- Pastuszka, J. S., Paw, U. K. T., Lis, D. O., Wlazło, A. and Ulfig, K.: Bacterial and fungal aerosol in indoor environment in Upper Silesia, Poland, *Atmos. Environ.*, 34(22), 3833–3842, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S1352-2310\(99\)00527-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1352-2310(99)00527-0), 2000.
- Reiniers, M. J., van Golen, R. F., Bonnet, S., Broekgaarden, M., van Gulik, T. M., Egmond, M. R. and Heger, M.: Preparation and Practical Applications of 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein in Redox Assays, *Anal. Chem.*, 89(7), 3853–3857, doi:10.1021/acs.analchem.7b00043, 2017.
- Saeki, K., Kunito, T. and Sakai, M.: Effects of pH, ionic strength, and solutes on DNA adsorption by andosols, *Biol. Fertil. Soils*, 46(5), 531–535, doi:10.1007/s00374-010-0447-y, 2010.

Sauvain, J.-J., Rossi, M. J. and Riediker, M.: Comparison of Three Acellular Tests for Assessing the Oxidation Potential of Nanomaterials, *Aerosol Sci. Technol.*, 47(2), 218–227, doi:10.1080/02786826.2012.742951, 2013.

Simonetti, G., Conte, E., Perrino, C. and Canepari, S.: Oxidative potential of size-segregated PM in an urban and an industrial area of Italy, *Atmos. Environ.*, 187, 292–300, doi:10.1016/j.atmosenv.2018.05.051, 2018.

Taberlet, P., Prud'Homme, S. M., Campione, E., Roy, J., Miquel, C., Shehzad, W., Gielly, L., Rioux, D., Choler, P., Clément, J.-C., Melodelima, C., Pompanon, F. and Coissac, E.: Soil sampling and isolation of extracellular DNA from large amount of starting material suitable for metabarcoding studies: EXTRACTION OF EXTRACELLULAR DNA FROM SOIL, *Mol. Ecol.*, 21(8), 1816–1820, doi:10.1111/j.1365-294X.2011.05317.x, 2012a.

Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Brochmann, C. and Willerslev, E.: Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding: NEXT-GENERATION DNA METABARCODING, *Mol. Ecol.*, 21(8), 2045–2050, doi:10.1111/j.1365-294X.2012.05470.x, 2012b.

Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L. and Coissac, E.: *Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring*, Oxford University Press, Oxford, New York., 2018.

Valko, M., Morris, H. and Cronin, M.: Metals, Toxicity and Oxidative Stress, *Curr. Med. Chem.*, 12(10), 1161–1208, doi:10.2174/0929867053764635, 2005.

Verma, V., Fang, T., Guo, H., King, L., Bates, J. T., Peltier, R. E., Edgerton, E., Russell, A. G. and Weber, R. J.: Reactive oxygen species associated with water-soluble PM_{2.5} in the southeastern United States: spatiotemporal trends and source apportionment, *Atmospheric Chem. Phys.*, 14(23), 12915–12930, 2014.

Vilgis, S. and Deigner, H.-P.: Sequencing in Precision Medicine, in *Precision Medicine*, pp. 79–101, Elsevier., 2018.

Visentin, M., Pagnoni, A., Sarti, E. and Pietrogrande, M. C.: Urban PM_{2.5} oxidative potential: Importance of chemical species and comparison of two spectrophotometric cell-free assays, *Environ. Pollut.*, 219, 72–79, doi:10.1016/j.envpol.2016.09.047, 2016.

Waked, A., Favez, O., Alleman, L. Y., Piot, C., Petit, J.-E., Delaunay, T., Verlinden, E., Golly, B., Besombes, J.-L., Jaffrezo, J.-L. and Leoz-Garziandia, E.: Source apportionment of PM₁₀ in a north-western Europe regional urban background site (Lens, France) using positive matrix factorization and including primary biogenic emissions, *Atmos Chem Phys*, 14(7), 3325–3346, doi:10.5194/acp-14-3325-2014, 2014.

Weber, S., Uzu, G., Calas, A., Chevrier, F., Besombes, J.-L., Charron, A., Salameh, D., Ježek, I., Močnik, G. and Jaffrezo, J.-L.: An apportionment method for the oxidative potential of atmospheric particulate matter sources: application to a one-year study in Chamonix, France, *Atmospheric Chem. Phys.*, 18(13), 9617–9629, doi:10.5194/acp-18-9617-2018, 2018.

Weber, S., Salameh, D., Albinet, A., Alleman, L. Y., Waked, A., Besombes, J.-L., Jacob, V., Guillaud, G., Meshbah, B., Rocq, B., Hulin, A., Dominik-Sègue, M., Chrétien, E., Jaffrezo, J.-L. and Favez, O.: Comparison of PM₁₀ Sources Profiles at 15 French Sites Using a Harmonized Constrained Positive Matrix Factorization Approach, *Atmosphere*, 10(6), 310, doi:10.3390/atmos10060310, 2019.

Womack, A. M., Artaxo, P. E., Ishida, F. Y., Mueller, R. C., Saleska, S. R., Wiedemann, K. T., Bohannon, B. J. M. and Green, J. L.: Characterization of active and total fungal communities in the

atmosphere over the Amazon rainforest, *Biogeosciences*, 12(21), 6337–6349, doi:10.5194/bg-12-6337-2015, 2015.

Zinger, L., Chave, J., Coissac, E., Iribar, A., Louisanna, E., Manzi, S., Schilling, V., Schimann, H., Sommeria-Klein, G. and Taberlet, P.: Extracellular DNA extraction is a fast, cheap and reliable alternative for multi-taxa surveys based on soil DNA, *Soil Biol. Biochem.*, 96, 16–19, doi:10.1016/j.soilbio.2016.01.008, 2016.

Chapitre 3 : Marqueurs moléculaires organiques et contributions des sources aux évolutions saisonniers des PM_{2.5} sur cinq sites ruraux en France.....	89
Préambule.....	90
Article 1: Organic markers and OC source apportionment for seasonal variations of PM _{2.5} at 5 rural sites in France.....	92
Supplementary information:.....	109
Conclusion et perspectives du chapitre 3	115

Chapitre 3 : Marqueurs moléculaires organiques et contributions des sources aux évolutions saisonnières des PM_{2.5} sur cinq sites ruraux en France.

Préambule

Comme nous l'avons évoqué précédemment dans le Chapitre 1, la matière organique (MO) constitue généralement la première composante en masse des PM. Elle concentre des sources à la fois anthropiques et biogéniques qui peuvent être classées selon leur caractère primaire ou secondaire. La caractérisation des sources et processus d'émission de la MO dans sa globalité et la compréhension des processus de sa formation et de son évolution dans l'atmosphère se trouvent souvent confrontées aux connaissances aujourd'hui encore limitées des traceurs organiques spécifiques de sources.

Dans le cadre des recherches actuelles sur les aérosols organiques d'origine biogénique primaire (PBOA) présentées dans la synthèse bibliographique, nous avons clairement vu que les sucres primaires (par exemple polyols, saccharides primaires) font actuellement l'objet d'une attention particulière de la part de la communauté de (géo)chimie atmosphérique. En effet, de par leur stabilité chimique et leur abondance atmosphérique (Fraser, 2010; Wang et al., 2018), certains sucres primaires ont été proposés comme des marqueurs moléculaires spécifiques d'émissions biogéniques primaires (Di Filippo et al., 2013; Gosselin et al., 2016; Jia et al., 2010b; Medeiros et al., 2006a; Medeiros and Simoneit, 2007; Simoneit et al., 2004a; Yan et al., 2019; Zhu et al., 2015b).

Ainsi, depuis une bonne dizaine d'années, de nombreuses études ont été menées pour caractériser le niveau de concentrations atmosphériques de différents sucres primaires dans les aérosols de diverses régions géographiques du monde (Barbaro et al., 2015a; Burshtein et al., 2011a; Fu et al., 2012a; Jia et al., 2010c; Medeiros et al., 2006a; Pietrogrande et al., 2014a; Simoneit et al., 2004a; Waked et al., 2014b; Yttri et al., 2007a). Si ces travaux ont montré que les sucres primaires peuvent constituer une fraction importante et significative des PM, une question scientifique encore non résolue demeure la compréhension des paramètres environnementaux qui contrôlent les variations temporelles (cycles journaliers, saisonniers, annuels) de la concentration de ces espèces chimiques. De même, les principales sources biogéniques de ces espèces chimiques et les processus dominants par lesquels elles se retrouvent dans l'atmosphère ne sont, à ce jour, toujours pas documentés. L'acquisition de ces connaissances est rendue difficile par le manque d'études examinant les dynamiques spatiales de séries temporelles longues (une année civile complète à minima) des concentrations atmosphériques des sucres primaires mesurées simultanément sur des sites d'étude représentatifs de plusieurs conditions climatiques.

Dans ce contexte global, ce troisième chapitre de thèse vise à fournir un aperçu général des dynamiques temporelles de la contribution moyenne à la MO pour différents marqueurs moléculaires organiques spécifiques des sources, dont ceux associés aux PBOAs. Ce travail est basé sur l'analyse de la spéciation chimique globale et détaillée des aérosols carbonés dans les PM_{2.5} prélevées simultanément sur 5 sites de fonds ruraux en France pendant une année civile complète. Les jeux de données exploités ici proviennent de la base de données présentée dans le Chapitre 2.

L'objectif premier de ce chapitre est de décrire les grandes tendances temporelles (cycles mensuels, saisonniers) des principales espèces (ou famille d'espèces) moléculaires traceurs de sources d'aérosols carbonés de la fraction PM_{2.5}. Ainsi, une première approche monotracteur simple, tentant d'estimer de façon simple la contribution saisonnière de différentes sources à la masse de l'aérosol carboné, est succinctement présentée dans ce chapitre. Nous avons fait le choix ici de présenter plusieurs

marqueurs organiques de sources anthropique ou biogénique, primaire ou secondaire. Le lecteur pourra se référer à la section 3.2.3 spécifiquement dédiée aux traceurs d'aérosol organique d'origine biogénique primaire. Les Chapitres 4 et 5 se focaliseront plus spécifiquement et apporteront plus de détails sur la compréhension fine des PBOAs.

Un deuxième objectif de ce chapitre est de fournir des indications sur les processus d'émission dans l'atmosphère des traceurs moléculaires associés aux PBOAs et d'investiguer succinctement l'origine géographique des espèces chimiques étudiées, en associant leurs niveaux de concentrations aux rétrotrajectoires du vent à l'aide d'une méthodologie statistique de type PSCF (Potential Source Contribution Function⁷).

Cette étude est originale par son approche multi-sites qui permet d'investiguer à la fois les dynamiques temporelles et spatiales de la concentration des traceurs étudiés. Elle se démarque ainsi singulièrement des études précédentes basées sur la description du niveau de concentration atmosphérique de ces espèces chimiques mesurées sur un seul site d'étude.

Ce chapitre, apportant des éléments de réponses relatifs au premier objectif de ce travail de thèse, est présenté ci-dessous sous la forme d'un article de revue publié dans le journal « *Atmospheric Environment* » en 2018, DOI : [10.1016/j.atmosenv.2018.10.027](https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.10.027).

⁷ pyPSCF <https://gricad-gitlab.univ-grenoble-alpes.fr/webbersa/pyPSCF>

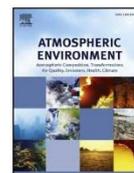
Article 1: Organic markers and OC source apportionment for seasonal variations of PM_{2.5} at 5 rural sites in France

Atmos. Environn., 198, 142-157, 2018, <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.10.027>



Contents lists available at ScienceDirect

Atmospheric Environment

journal homepage: www.elsevier.com/locate/atmosenv

Organic markers and OC source apportionment for seasonal variations of PM_{2.5} at 5 rural sites in France

B. Golly^{a,*,*}, A. Waked^{a,1}, S. Weber^a, A. Samake^a, V. Jacob^a, S. Conil^b, J. Rangognio^c, E. Chrétien^d, M.-P. Vagnot^e, P.-Y. Robic^f, J.-L. Besombes^g, J.-L. Jaffrezo^{a,*,*}

^a Univ. Grenoble Alpes, CNRS, IRD, G-INP, IGE, F-38000, Grenoble, France

^b ANDRA DRD/GES Observatoire Pérenne de l'Environnement, F-55290, Bure, France

^c Lig'Air, F-45590, Saint-cyr-en-Val, France

^d Atmo Grand Est, F-67300, Schiltigheim, France

^e Atmo AuRA, F-38400, Grenoble, France

^f Atmo Occitanie, F-31770, Colomiers, France

^g Univ. Savoie Mont-Blanc, LCME, F-73000, Chambéry, France



ARTICLE INFO

Keywords:

OC source apportionment
PM_{2.5}
Rural sites
Organic markers
PSCF

ABSTRACT

The chemical characterization of PM_{2.5} was conducted at 5 rural background sites in France for the year 2013. Chemical analysis of daily samples every sixth day included the measurements of organic carbon (OC), elemental carbon (EC), ionic species and several specific primary and secondary organic tracers such as levoglucosan, polyols, methane sulfonic acid (MSA) and oxalate. The sampling sites were spatially distributed in order to be representative of the French atmospheric background. The results showed well identified temporal variations common to all the 5 sampling sites, covering a large fraction of France. During winter, concentrations of the biomass burning marker levoglucosan are significantly increased with high synchronous temporal pattern, indicating the strong impact of this source at a regional scale. During summer, concentrations of primary biogenic markers such as polyols (arabitol, mannitol) increase due to higher biological activities while oxalate contributions to OC also increases, attributed to ageing processes. The sources of primary organic aerosol are investigated using mono-tracer approaches based on these compounds. Results indicate that the relative contributions of wood burning to OC are very high, reaching an average value of 90% during winter for some of the rural sites. Terrestrial primary biogenic organic fraction is significant in summer and fall with a monthly contribution ranging from 4.5 to 9.5% of OC in PM_{2.5}. A synchronous increase is also observed for secondary organic tracers (MSA, oxalic acid) during warm period confirming the influence on the large scale of these compounds that can account for 10–20% and 5–7% of the OC mass, respectively.

1. Introduction

Chemical composition of European PM continental rural background aerosol has been widely studied these last decades (Alastuey et al., 2016; Putaud et al., 2010, 2004). It contains a large fraction of organic matter (OM) accounting at least for 15–20% for the European rural PM_{2.5}. However, the chemical composition and properties of this OM are still largely unidentified (Hamilton et al., 2005; Putaud et al., 2010), while knowing the sources and the atmospheric processes involved in the formation of this fraction represents a large challenge for the determination of the climatic and health effects on regional and

local air quality (Nozière et al., 2015).

Specific chemical markers have been widely used to study the importance of various sources (Bauer et al., 2008b, 2008b; Burshtein et al., 2011; Heo et al., 2013; Medeiros et al., 2006; Womiloju et al., 2003). For instance, levoglucosan is known as a good molecular marker of biomass burning in literature (Fine et al., 2001, 2004; Simoneit et al., 2004; Simoneit, 2002; Nolte et al., 2001) and his concentration served to estimate the biomass burning contribution to OC to atmospheric aerosols in European sites (Bond et al., 2004; Herich et al., 2014; Puxbaum et al., 2007). This leads to the information that biomass burning constitutes an important source of PM_{2.5} in winter season,

* Corresponding author. Univ. Savoie Mont-Blanc, LCME, F-73000, Chambéry, France.

** Corresponding author. Univ. Grenoble Alpes, CNRS, IRD, G-INP, IGE, F-38000, Grenoble, France.

E-mail addresses: Benjamin.golly@univ-smb.fr (B. Golly), jaffrezo@univ-grenoble-alpes.fr (J.-L. Jaffrezo).

¹ Now at IMT Lille Douai, Univ. Lille, SAGE - Département Sciences de l'Atmosphère et Génie de l'Environnement, 59 000 Lille, France.

<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.10.027>

Received 24 April 2018; Received in revised form 18 September 2018; Accepted 17 October 2018

Available online 31 October 2018

1352-2310/ © 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved.

amounting up to 18–68% at rural background sites in Europe.

While considerable effort has been undertaken to apportion OM associated with anthropogenic sources, primary and secondary biogenic sources which account for a significant fraction of organic aerosols on a global budget are not well known (Glasius et al., 2018; Liang et al., 2017; Tsigaridis and Kanakidou, 2003). The chemical composition at the molecular level stays in discussion with a wide range of characterization methods (Després et al., 2012; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016), particularly when it comes to the emission processes of the fraction from biogenic origin (Wéry et al., 2017). Recently, several major classes of organic compounds such as sugars (e.g. glucose, threolose, sucrose), sugars alcohols (e.g. arabitol, mannitol, methyl-threitol), organic acids (e.g. n-alkanoic acids) persistently emitted from either primary or secondary biogenic emissions (e.g. soils and associated microbiota, bioaerosols, green algae, or plants) have been widely proposed and used as specific molecular markers for biogenic sources (Caseiro et al., 2007; Fu et al., 2013; Jia et al., 2010b; Pietrogrande et al., 2014; Steinbrecher et al., 2009; Verma et al., 2018; Yttri et al., 2007b, 2007a). For instance, among sugar alcohols (also called as polyols), arabitol and mannitol are particularly widespread in nature and serve as the main energy storage materials in fungi, or as intracellular osmo-regulatory solutes in different microorganisms (Caseiro et al., 2007; Elbert et al., 2007; Liang et al., 2013; Medeiros et al., 2006; Simoneit et al., 2004; Zhang et al., 2010). Their occurrence in PM from different environmental backgrounds (rural, urban, marine, polar) around the world have therefore been used to apportion sources and fungal contribution to OM mass (Fu et al., 2013; Graham et al., 2003; Jia et al., 2010b, 2010a; Liang et al., 2016; Verma et al., 2018; Yttri et al., 2007b; Zhu et al., 2015). However, although the atmospheric concentrations of polyols and co-emitted chemicals have been measured in many parts of the world, quantitative data characterizing simultaneously their abundance and spatial and annual variations in various rural background sites are limited. Yet, such spatial and annual time-series data are necessary to understand the main drivers of the emission processes, still unknown.

In this paper, we present the detailed chemical composition of atmospheric PM_{2.5} collected at 5 French rural background sites during the year 2013. This study mainly focuses both on the primary organic tracers of anthropogenic and biogenic sources such as levoglucosan and polyols respectively, and on secondary organic tracers such as oxalate and methane sulfonic acid (MSA). The aims are to determine the concentration levels and the annual cycles of these specific organic tracers in order to better assess the contributions of these emission sources. Due to the various rural background typologies of our 5 sites, this study could provide good indications of the OC sources for a large part of the Western European rural background.

2. Material and methods

2.1. Site description and sampling period

PM_{2.5} aerosol samples were collected simultaneously at 5 rural sites in France during the whole year 2013. The sampling sites were selected in a way to cover an important part of the French national territory. Since they are far enough from any local anthropogenic sources, they are regional representative of the French rural atmospheric background and are also most probably comparable to many other sites of western European rural regions. The sites are located in the North-Eastern (Revin and Andra-OPE), Center (Verneuil), South-Eastern (Dieulefit) and South-West (Peyrusse-Vieille) parts of France (Fig. 1). Those regions offer a large diversity of climate, local and rural activities as well as geography and thus are potentially subjected to various types of PM emission sources. The site at ANDRA-OPE is a specific global observatory (<http://www.andra.fr/ope/>), Dieulefit was a regional representative site now closed while the other sites are part of the MERA/EMEP network (<http://www.emep.int/>) and thus fulfill the EMEP site



Fig. 1. Location of the 5 rural background sampling sites in France (Google Earth).

selection criteria.

All sites are characterized by a population of less than 7000 inhabitants within an area of several km in diameter, and have no important industrial and road transport activities around. The Revin site is an EMEP site (EMEP/FR09) located in the middle of a coniferous forest at an altitude of 390 m a.s.l. Weather data indicate predominant winds from the East and West of the site. Peyrusse-Vieille (EMEP/FR13) is located on the South-West of France at an altitude of 200 m a.s.l, and the measurement station is 250 m away from the center of a very small village of less than 100 inhabitants. It is 130 km away from the Atlantic Ocean, 45 km from the forest of Landes and 32 km from the closest town (Auch, about 22 000 inhabitants). The Andra-OPE sampling site is in an area located 230 km East of Paris at an altitude of 390 m a.s.l, in an intensive agricultural area without any village within several kilometers. Dieulefit is a rural site located at 460 m a.s.l and characterized by mistral conditions where the wind speed increases in the Rhone valley by the effect of anticyclones conditions between the Massif Central and the Alps. Finally, the national rural site of Verneuil (EMEP/FR25) (He et al., 2018) lies at an altitude of 180 m a.s.l in the center of France. The land cover around the site is dominated by forests (more than 50% of the surrounding land cover). It can however be influenced by some activities of the timber industry.

2.2. Sampling collection and supplementary data

The site at OPE-ANDRA is managed and instrumented by the French national radioactive waste management agency (ANDRA) and the data presented here cover the years from January 2012 to December 2014. All other sites are instrumented and operated by the regional air monitoring networks (AASQA) in charge of the respective areas. PM_{2.5} samples were collected at these 5 sites from January through December 2013. All collection took place on a 24-h basis using high volume samplers (DIGITEL Aerosol Sampler DHA-80) equipped with a PM_{2.5} inlet at a flow rate of 30 m³ h⁻¹. Samples were collected every sixth day on average, with field blank collected every month at least. Weekly PM₁₀ samples at low flow rates (1 m³ h⁻¹) were also collected at the OPE-ANDRA site for the 3 years 2012–2014, using 47 mm quartz filters and Partisol samplers, and processed in the same way.

Collection took place on quartz fiber filters (Tissue-quartz PALL

QAT-UP 2500, 150 or 47 mm diameter) that were prebaked at 500 °C for 6 h before use to remove any trace of organic contaminants. Filters were wrapped by pack of 10 in aluminum foil for transfer to each field operator. Samples were collected from the sites on a weekly basis from the sampling sites, taken off the filter holder in clean conditions and stored individually at –18 °C in aluminum foil sealed in Ziploc bags prior to their analysis. They were transferred each month to the lab in Grenoble in cold packages. PM mass concentrations (PM₁₀ and PM_{2.5}) were measured in parallel with TEOM (TEOM50 or TEOM FDMS, R&P) with 10 min time resolution. The total number of samples collected ranged from 56 to 67 for atmospheric samples and from 7 to 27 for blank filters (see the supporting information (SI) Table S1). For each chemical species analyzed, the yearly average blank values for each station were subtracted from the samples measurements before calculation of atmospheric concentrations.

2.3. Instrumental analysis

2.3.1. Carbonaceous matter (EC/OC)

Chemical speciation of atmospheric PM were performed for a large array of elements and components using a range of instrumental techniques on sub-sampled fractions of the collected filters. The bulk carbonaceous content of the aerosol samples, including organic carbon (OC) and elemental carbon (EC), was quantified with a thermo-optical transmission method on a Sunset Lab analyzer (Birch and Cary, 1996). One punch of 1.5 cm² is directly analyzed following the procedure reported in the literature (Aymoz et al., 2007) using the EUSAAR2 temperature program (Cavalli et al., 2010). Automatic split time was always used for the distinction between EC and pyrolyzed OC. External calibration is conducted 3 times per analyzing day with a deposition of a sucrose standard solution on clean filters (42.07 µgC.cm⁻²). Our lab has been taking part to the yearly intercomparison conducted within ACTRIS (<http://actris2.nilu.no/>) and other programs (Panteliadis et al., 2015), showing good results.

2.3.2. Soluble components

For the analysis of water soluble species, a calibrated punch of each filter (11.34 cm²) was soaked in a HDPE tube for 30 min with 15 mL of Milli-Q water, with orbital shaker agitation. Before analysis, the extracts were filtered through a pre-rinsed Acrodisc filter (Pall, Gelman) with 0.25 µm-porosity to remove insoluble material and filter debris. The analyses took place within a maximum of 3 days after the extraction, and the extracts were kept at 4 °C if not analyzed the same day. This methodology is similar to the one commonly used for ambient air filter samples in our group (Jaffrezo et al., 2005; Waked et al., 2014).

Soluble anions (Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻) and cations (Na⁺, NH₄⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺) were analyzed by ionic chromatography (IC, Thermo Fisher ICS 3000) equipped with AS/AG 11HC and CS/CG 12A columns for anions and cations analyses, respectively. Methane sulfonate (MSA) and oxalate are also quantified in the same anion run (Jaffrezo et al., 1998).

Sugar anhydrides (levoglucosan, mannosan, and galactosan) and sugar alcohols (arabitol, sorbitol, mannitol and glucose) were detected and quantified by HPLC-PAD using a set of Methrom columns (MetroSep A Supp 15 and Metrosep Carb1) according to the method described in Waked et al. (2014). The aqueous sodium hydroxide eluent had a flow rate of 0.52 mL.min⁻¹. The detector was a pulsed amperometric detector with a gold electrode as a work and silver-chloride as reference electrode on a Dionex DX-500 HPLC. Authentic standards were used in both analyses (ions and sugars) for identification and daily calibration of each targeted compound.

2.4. Atmospheric back-trajectories and PSCF analysis

Geographical origins of aerosol could allow a better identification of the PM_{2.5} emission sources. The potential source contribution function

(PSCF) is an interesting tool combining the observations such as concentration time series with atmospheric back-trajectory calculations (Ashbaugh et al., 1985). The methodology is extensively described elsewhere (Polissar et al., 1999). Briefly, The PSCF defines the probability for a certain geographical area described by a cell with coordinates (i, j) to contribute to high level of the chemical species concentrations measured at the receptor site. For each ijth grid cells, probabilities are calculated with the ratio between the number of back-trajectories associated with measured concentrations of specie over a threshold passing through grid cell (m_{ij}) and the total number of back-trajectories passing through the same cell (n_{ij}), according to the following equation:

$$PSCF_{ij} = \frac{m_{ij}}{n_{ij}} \cdot W \quad (1)$$

In our study, the threshold was chosen such as the 75th centile of the concentration of a selected species. A weighting function W can then be implemented to reduce the contribution from grid cells associated with low frequency of occurrence. Weighting coefficients are usually empirically determined (Jeong et al., 2011; Hwang and Hopke, 2007), but another method, based on a ‘back-trajectory density’ ($\log(n+1)$) allows less manual work (Bressi et al., 2014). This last method was previously used in source apportionment study in France (Bressi et al., 2014; Waked et al., 2014) and was applied in our case. The weighting function is determined as:

$$W = \begin{cases} 1.00 & \text{for } n_{ij} \geq 0.85 \times \max(\log(n+1)) \\ 0.73 & \text{for } 0.85 \times \max(\log(n+1)) > n_{ij} \geq 0.60 \times \max(\log(n+1)) \\ 0.48 & \text{for } 0.60 \times \max(\log(n+1)) > n_{ij} \geq 0.35 \times \max(\log(n+1)) \\ 0.18 & \text{for } 0.35 \times \max(\log(n+1)) > n_{ij} \end{cases} \quad (2)$$

Where $\max(\log(n+1)) = 2.69$, or $\max(n_{ij}) = 497$ in this study. For graphical and uncertainties of back-trajectories purpose, resulting PSCF values were filtered by a Gaussian smoothing algorithm and eventually normalized. All calculations were performed under python (code available at <https://github.com/weber-s/pyPSCF/>). Finally, 72-h back-trajectories, along with meteorological parameters (i.e. precipitation) were calculated using the PC-based version of HYSPLIT (Stein et al., 2015) every 9 h for the year 2013, and for each site. Back-trajectories starting point were set 100 m above the ground station and the position of the air masses stored every 3 h. Meteorological parameters (RH, T and rainfall) were estimated for each grid cell. If rainfall (> 0 mm) was detected for a grid cell, we assumed a full wet deposition and a cleaning of the air mass. Back-trajectories were then accounted only from the starting point up to this cell.

3. Results and discussion

3.1. Global mass balance of fine particle from French rural backgrounds

3.1.1. PM_{2.5} mass concentrations

Since TEOM data sets were not complete nor available for all sites over the full year 2013, PM_{2.5} mass concentrations were calculated based on the reconstructed chemical composition. It is performed with the following equation:

$$[PM_{2.5}]_{calc} = [OM] + [EC] + [nss - SO_4^{2-}] + [NO_3^-] + [NH_4^+] + [sea\ salt] + [dust] \quad (3a)$$

Sea salt sulfate [ss-SO₄²⁻] is calculated by multiplying the mass concentration of sodium by a factor of 0.251 (Seinfeld and Pandis, 2006). The non-sea salt sulfate [nss-SO₄²⁻] could then be calculated by subtracting the [ss-SO₄²⁻] mass concentration from the total mass of sulfate. Accordingly, sea-salt is estimated based on the concentrations of [Na⁺] with [sea salt] = 2.54 × [Na⁺] whereas dust is estimated

based on the concentrations of $[Ca^{2+}]$ with $[dust] = \left([Ca^{2+}] - \frac{[Na^+]}{26} \right) \times 5.6$ (Grythe et al., 2014; Putaud et al., 2010, 2004). The Organic Matter (OM) mass is calculated from the OC values considering an OM-to-OC conversion factor of 1.75. This factor is selected within the range of those used in the literature (Bertrand et al., 2018; Bertrand, 2017; Bressi et al., 2013; Chan et al., 2010; Favez et al., 2010; Puxbaum et al., 2007). The PM_{2.5} masses reconstructed according to this method shows a good correlation with PM_{2.5} concentrations measured by TEOM at the sites of Verneuil (R = 0.88, n = 60), Dieulefit (R = 0.85, n = 56) and Andra-OPE (R = 0.83, n = 60) where the full series of TEOM data were available.

Annual average reconstructed PM_{2.5} values (hence taking into account only days with filter collection) are comparable at the 4 sites of Verneuil, Dieulefit, Andra-OPE and Revin, and range from 10 to 12 $\mu\text{g m}^{-3}$, with the highest value recorded at Verneuil and the lowest value at Dieulefit. The average yearly concentration of PM_{2.5} is lower at Peyrusse-Vieille with a value of 6.6 $\mu\text{g m}^{-3}$. All of these concentrations are in the lower range of 3–35 $\mu\text{g m}^{-3}$ reported for rural areas in the European region (Putaud et al., 2010). Further, they are also in the same range than the average values (10.8–12.6 $\mu\text{g m}^{-3}$) reported in 2009–2010 for rural background sites in the region of Paris, France (Bressi et al., 2013).

Time series of PM_{2.5} show exceedances of the daily recommended value of 25 $\mu\text{g m}^{-3}$ (air quality directive 2008/EC/50) only during the period of January to April, with occurrences of 7 days at Revin, 6 days at Verneuil and 4 days at Andra-OPE. At Dieulefit, exceedance occurred for 4 days in February and March 2013 whereas at Peyrusse-Vieille, levels of PM_{2.5} exceeded the daily recommended value of 25 $\mu\text{g m}^{-3}$ only once, in February 2013. These exceedances, which occurred during the same periods, are mostly related to the occurrence of specific pollution episodes showing either a regional origin (long range transport), or local origin influenced by large scale meteorological conditions (anticyclonic situations).

All sites except Peyrusse-Vieille show in 2013 an increase in PM_{2.5} monthly mean (Fig. 2) during the winter and spring seasons, when the majority of the exceedance days occurred. This figure also indicates an increase of monthly average concentration during summer, more prominent at the Andra-OPE measurement site. The concentrations measured at Peyrusse-Vieille are typically lower than at all the other sites for the whole year, with no clear seasonality.

3.1.2. PM_{2.5} annual mean composition

This section presents a quick overview of the average concentrations and contributions of the major components of the PM_{2.5} for the 5 sites. Fig. 3 shows that the major components of PM_{2.5} are OM, NO₃⁻ and SO₄²⁻. Their contributions to the total mass range from 33 to 46% for OM, 12–23% for NO₃⁻ and 15–22% for SO₄²⁻. These values are higher than the average contributions of OM of 15% and NO₃⁻ of 6% reported for rural background sites in Europe by Putaud et al. (2010). These differences can probably be explained by the sites identified as rural background in the European study, which are located far away from large pollution sources (approximately 10–50 km), while combustion sources may be somewhat closer in our study.

Comparisons of the annual average composition of the PM at these 5 rural background sites show a large degree of similarity, indicating a rather homogeneous chemical composition over a large fraction of the French national territory. Some differences can be pointed out, with larger contributions of OM at Dieulefit and Peyrusse-Vieille compared to that at the other sites, and a larger contribution for the dust source at Verneuil and Andra-OPE (reaching 12% and 8% of the total mass, respectively). We also observe a lower contribution of NO₃⁻ at Peyrusse-Vieille compared to the other sites in agreement with the European north-south gradient of particulate ammonium nitrate (Pay et al., 2012). However, these differences do not drastically change the chemical composition of the PM_{2.5}. Finally, the proportion of OM chemically identified is within the range of 6–8% for all 5 sites, consistent with the range of 3.5–11.1% reported for many rural background studies in France or Switzerland (Gianini et al., 2012). These specific organic compounds are discussed below in section 3.2.

3.2. Time trends of specific source markers in the PM_{2.5} carbonaceous aerosol

3.2.1. Temporal evolution of EC and OC

Annual average concentrations of EC and OC during this study are comparable at Verneuil, Dieulefit, Andra-OPE, and Revin. They range from 2.14 to 2.50 $\mu\text{g m}^{-3}$ for OC and from 0.28 to 0.31 $\mu\text{g m}^{-3}$ for EC. Annual average values are lower at Peyrusse-Vieille with 1.70 and 0.20 $\mu\text{g m}^{-3}$ for OC and EC, respectively. These measurements are within the range of 1.8–2.7 $\mu\text{g m}^{-3}$ for OC and 0.1–1.1 $\mu\text{g m}^{-3}$ for EC as reported for rural background sites across Europe (Zanatta et al., 2016; Herich et al., 2014; Bressi et al., 2013; Laongsri and Harrison, 2013;

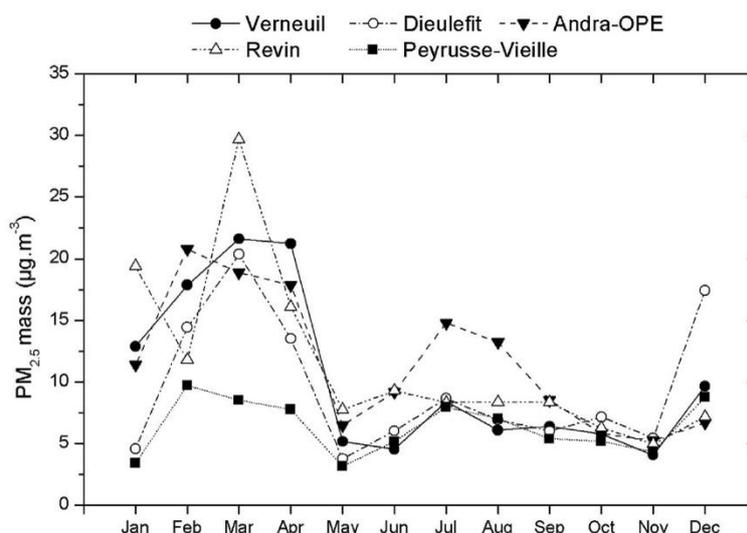


Fig. 2. Monthly variation of PM_{2.5} reconstructed concentrations in $\mu\text{g.m}^{-3}$ at the 5 rural background sites.

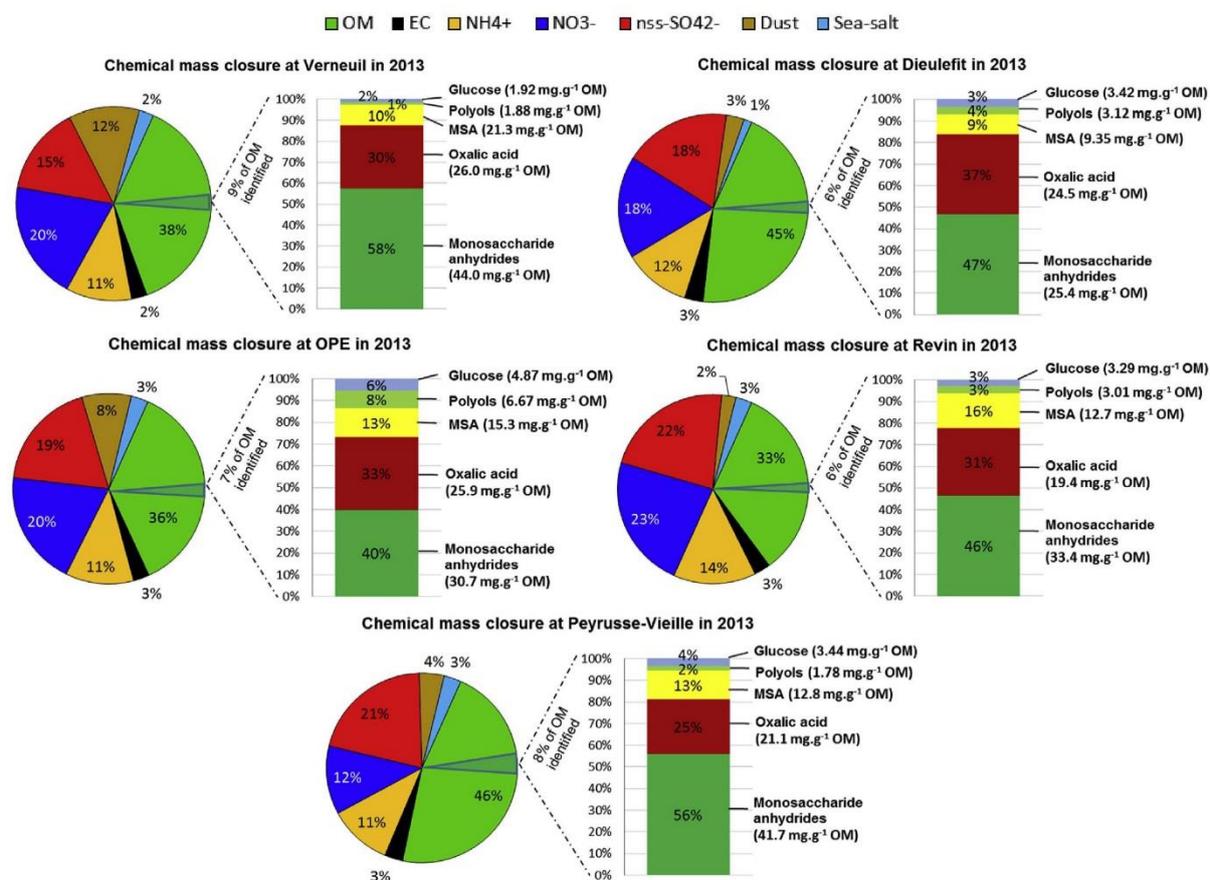


Fig. 3. Chemical mass balance of PM_{2.5} in 2013 at the 5 rural background sites.

Yttri et al., 2011b; Hueglin et al., 2005). Correlations coefficients between daily values of PM_{2.5} and EC are high during winter at Verneuil ($R = 0.86$), Revin ($R = 0.98$) and Andra-OPE ($R = 0.90$) and lower in the summer season (0.64, 0.77, and 0.67, for Verneuil, Revin and Andra-OPE, respectively). It is a good indication that during the winter season, combustion processes impact significantly the PM_{2.5} measured concentrations even in rural background sites.

The temporal variability of the monthly average concentration of OC (Fig. 4) indicates maximum values during both the winter and the summer seasons whereas for EC (Fig. S2), maximum values were typically observed during the winter season only (December through February). The mean OC/EC ratios at the sites present a typical annual variability and range from 9.2 to 12.1 in summer and from 5.1 to 6.9 in winter. These ratios are similar to those reported for many European rural background sites (Bressi et al., 2013; Laongsri and Harrison, 2013; Yttri et al., 2011a; Gelencsér et al., 2007; Hueglin et al., 2005). This typical increase of the OC/EC ratio observed during summer (Fig. S2) indicates a significant influence of the secondary organic aerosol formation and/or the aging of aerosols during long-range transport to remote sites (Chan et al., 2010), together with a decrease of the influence of the combustion sources producing EC. The results obtained during this study are in line with those of many others studies in Europe (Caseiro et al., 2009; Gelencsér et al., 2007).

3.2.2. OC anthropogenic source apportionment by basic macro tracer approach

3.2.2.1. Biomass burning. Levoglucosan is the most abundant

anhydrosugars formed and emitted into the atmosphere by the incomplete combustion of hemicellulose and cellulose during the pyrolysis of wood (Fine et al., 2004; Simoneit, 2002). Some studies report that levoglucosan can be oxidized during transport in the atmosphere under typical summertime OH levels (Hennigan et al., 2011, 2010), but this assumption is still under consideration (Bertrand et al., 2018). However, it is still considered as an excellent molecular tracer of biomass burning aerosols in winter, and used as such in many studies, in European regions (Herich et al., 2014) and all over the world (Hu et al., 2013). Table S1 presents statistics on the concentrations of levoglucosan at the 5 sites, while monthly variations of the ratio of levoglucosan-to-OC are presented on Fig. 5.

Annual average concentrations for levoglucosan at the sites of Andra-OPE, Revin, Dieulefit, and Peyrusse-vieille are close to a value of 100 ng m^{-3} in 2013, with about 89.8, 92.8, 106, and 122 ng m^{-3} , respectively. The average concentration measured at Verneuil is slightly higher and reaches 199 ng m^{-3} . For all of these rural sites, the maximum daily concentrations of levoglucosan are observed during the winter, and encompass a wide range, from 399 ng m^{-3} (Revin) to 1372 ng m^{-3} (Peyrusse-Vieille). Monthly variations of the levoglucosan fraction to OC (Fig. 5) show a pronounced annual cycle similar for all sites with maximum concentrations during the winter season classically attributed to the use of wood combustion for domestic heating as observed for many studies conducted in rural areas in European sites (Caseiro et al., 2009; Puxbaum et al., 2007). Winter-to-summer ratios for concentrations of levoglucosan are ranging from 15 to 42 in our study, in the same range observed during the Carbosol program

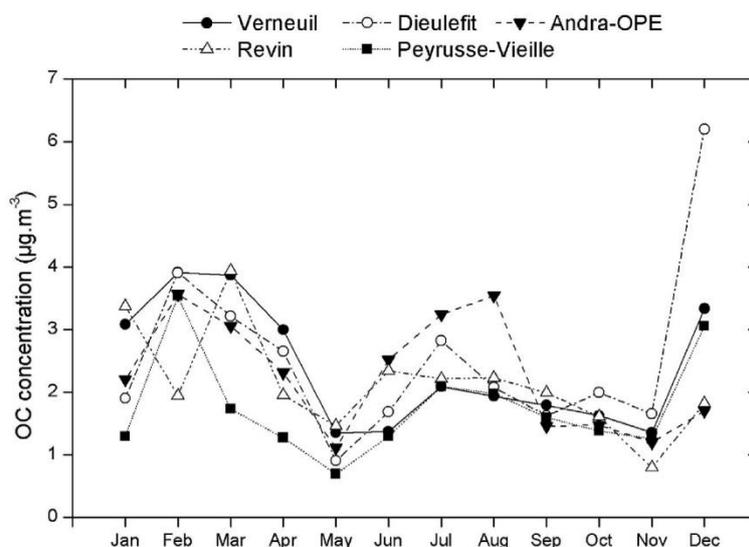


Fig. 4. Monthly variation of OC concentration at the 5 rural background sites in PM_{2.5}.

(Puxbaum et al., 2007).

In December, levoglucosan represents an average of 8%–19% of the OC mass in PM_{2.5} samples. High correlation coefficients between OC and this biomass-burning marker are obtained in winter (R ranging from 0.80 to 0.98 according to the sites; n = 24 to 29 samples from November to February), indicating the significant impact of biomass burning emissions to the total measured OC during the cold period. In agreement with a recent review on PM source apportionment in Europe (Belis et al., 2013) and in France (Favez et al., 2016), it shows that the contribution of wood burning is one of the main source to the OC fraction collected at French rural background sites in winter.

Fig. 5 highlights highly synchronous changes of the contribution of wood burning to organic matter on the French national scale. However, different mass fractions are reached in the heart of the winter, which may be explained by differences in local atmospheric conditions, proximity of inhabited areas, and extent of the use of wood for house heating. Still, correlation coefficients between daily concentrations of

levoglucosan and its stereoisomers are ranging from 0.97 to 0.99 for mannosan and from 0.94 to 0.99 for galactosan, an indication that these compounds are emitted in the same way by local sources influencing each site. The concentration ratio of levoglucosan-to-mannosan can be used to differentiate the type of wood combustion between hardwood (angiosperm) and softwood (gymnosperm) during winter season (Schmidl et al., 2008; Fine et al., 2004). The average ratios obtained in winter were 17.3 at Verneuil, 13.8 at Dieulefit, 16.7 at Peyrusse-Vieille, 11.2 at Revin and 13.1 at Andra-OPE. These ratios are typically comparable to the values reported for hardwood burning (Schmidl et al., 2008), in agreement with an assumption of the prevalence of this wood type burned in French rural background sites (Besombes et al., 2011).

The geographical distribution of the 72 h air mass back-trajectories are reported in supplementary data (Figs. S5 and S6). PSCF analysis highlight high similarities for the spatial distribution of geographical origins between levoglucosan emission sources and EC emission sources. The distributions for each site show several hotspots pointing

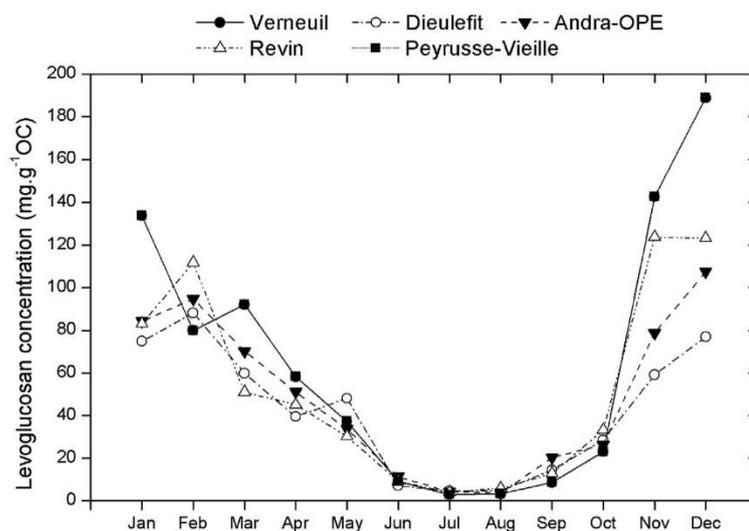


Fig. 5. Monthly variation of levoglucosan mass fraction to OC at the 5 rural background sites in PM_{2.5}.

to densely urban regions such as the sector of North-Eastern Europe and Ile de France Basin (Verneuil, Andra-OPE and Revin), Rhône valley (Dieulefit) or Western coastal region (Peyrusse-Vieille), where combustion emissions have high contribution for carbonaceous aerosol, particularly during wintertime.

A basic macro-tracer approach based on this molecular tracer can be performed with the data series from the different sites. This approach is commonly used in the literature (Yttri et al., 2011b; Gelencsér et al., 2007) to apportion OC mass fraction from biomass burning (OC_{bb}) and from fossil fuel combustions (OC_{ff}), using the following set of equations:

$$[OC_{bb}] = f_1 \times [Levogluconan] \quad (3b)$$

$$[EC_{bb}] = [Levogluconan]/f_2 \quad (4)$$

$$[EC_{ff}] = [EC] - [EC_{bb}] \quad (5)$$

$$[OC_{ff}] = [EC_{ff}]/f_3 \quad (6)$$

$$[OC_{other}] = [OC] - [OC_{bb}] - [OC_{ff}] \quad (7)$$

Where f_1 , f_2 are the OC-to-levoglucosan and EC-to-levoglucosan ratios for biomass burning combustion emissions and f_3 , the OC-to-EC ratio from primary fossil fuel combustion emissions. The values of 7.0 and 2.72 were selected for f_1 and f_2 according to the literature (Fine et al., 2004), as the values mostly used by mono-tracer source apportionment studies in European rural sites (Herich et al., 2014 and reference therein; Puxbaum et al., 2007). The value of 1.65 for f_3 was selected following the study of El Haddad et al. (2009) conducted in a tunnel in France.

The monthly average OC mass from biomass burning calculated by this mono-tracer approach is presented in Fig. 6. It shows that biomass burning is the predominant emission source of OC during the winter period at all sites, with an average of $[OC_{bb}]$ larger than 40% (Nov–March), and reaching maxima near 90% in December and January. These relative contributions of wood combustion are remarkably high. Indeed, in European sites mostly impacted by biomass burning such as rural background sites, the contribution of wood combustion to OC in PM₁₀ or in PM_{2.5} are only in the range of 30–70% during wintertime (Caseiro et al., 2009; Gelencsér et al., 2007; Puxbaum et al., 2007; Yttri et al., 2011b). Contributions higher than 70% of OC mass are only reported for French and Swiss alpine valleys (Daellenbach et al., 2017; Herich et al., 2014). Finally, the highest daily winter concentrations of OC_{bb} at our sites range from 2.8 $\mu\text{gC.m}^{-3}$ to 9.6 $\mu\text{gC.m}^{-3}$, comparable to those found at some rural European sites severely impacted by anthropogenic emissions (Caseiro et al., 2009; Gelencsér et al., 2007; Piot, 2011; Puxbaum et al., 2007). The contributions decreased during spring

and reached a minimum in summer (June to August) with about 4–6% of the OC mass only. These results show the specificities of these French rural background sites with regard to the impact of wood combustion in PM_{2.5} on the large scale.

3.2.2.2. Fossil fuel combustions. In this basic mono-tracer source apportionment approach, we assume that EC comes from two sources only, biomass burning and fossil fuel combustion. With this hypothesis, EC_{ff} is inferred from equations (4) and (5), and OC_{ff} fraction from equation (6). Monthly variation of OC_{ff} is presented on Fig. 6. This fraction of OC does not show large annual variations, with average annual contributions of 5.3% at Verneuil, 6.3% at Dieulefit, 5.6% at Peyrusse-Vieille, 7.8% at Revin and 7.8% at Andra-OPE. The evaluations for December present more variability, due to the very large fraction of OC_{wb} at that time. These numbers are within a rather narrow range, showing an impact of these sources quite homogeneous over the rural areas of a large fraction of France. However, this is less the case during the winter period, probably due to the increase and the geographical variability of several combustion emission sources (including house heating with fuel appliances) and to variable local meteorology. These estimations of the fossil fuel fractions of OC to the PM_{2.5} are similar to the range of 5–9% presented for a European rural background site in the Po valley in Ispra, also showing a low seasonal variability (Gilardoni et al., 2011). Further, in agreement with the typologies of our rural sites, OC_{ff} fraction at these French background sites are lower than the contribution calculated at the regional polluted background site of western Europe where the contribution range from 15% to 35% (Dusek et al., 2017).

3.2.3. Apportionment of biogenic sources

The basic approach above highlights that a large fraction of OC remains un-apportioned, essentially during summer (Fig. S3) when it can represent more than 80% of the total OC mass. This is in line with many studies underlining the important contributions of primary and secondary biogenic emission at that time of the year (El Haddad et al., 2011; Gilardoni et al., 2011). The sections below try to identify and quantify the contributions of some other potential sources.

3.2.3.1. Terrestrial primary biogenic organic aerosols. Continental bioaerosols in the atmosphere include bacteria, fungi, virus, pollen and cell debris (Fröhlich-Nowoisky et al., 2016). Primary sugar alcohols such as arabitol, mannitol and sorbitol are ubiquitous in fungi and they are commonly considered as tracers of primary biological aerosol particles (PBAP) associated with fungal spores emissions (Bauer et al., 2008a, 2008b; Yttri et al., 2007b). These compounds have mainly been

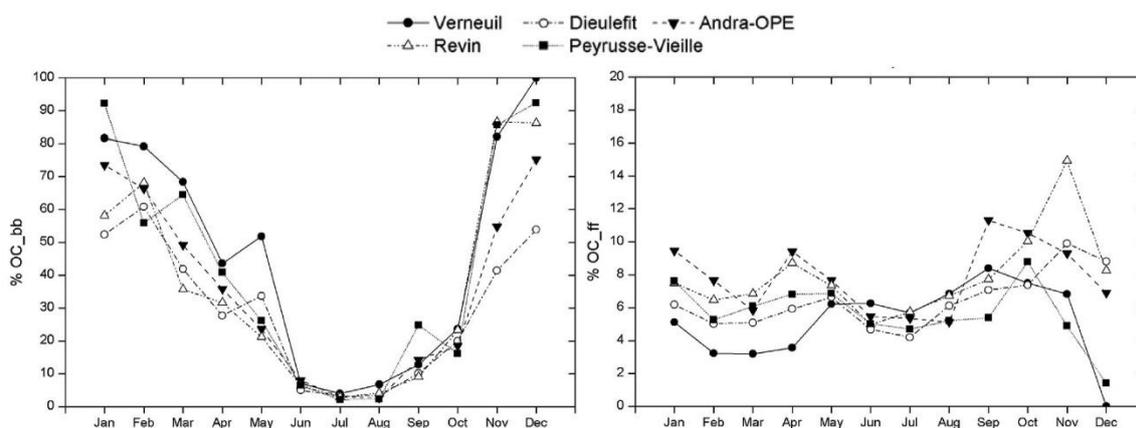


Fig. 6. Monthly variation of OC (%) from biomass burning (left) and fossil fuel (right) combustions calculated by mono-tracer approach at the 5 rural background sites in PM_{2.5}.

quantified in rural and forested regions (Ion et al., 2005; Medeiros et al., 2006; Yttri et al., 2007b; Zhang et al., 2010) where biological activities in soils and on plants are particularly intense. Some studies also concerned atmospheric aerosol collected in urban areas (Bauer et al., 2008a; Carvalho et al., 2003; Chow et al., 2015; Urban et al., 2014; Zhu et al., 2018), in remote coastal regions (Burshtein et al., 2011; Fu et al., 2012; Verma et al., 2018) and more recently, in polar regions (Barbaro et al., 2015). These compounds were used as tracers in source apportionment models to quantify primary biogenic emissions at sites in France (Favez et al., 2016; Srivastava et al., 2018; Antoine Waked et al., 2014). All of these studies point out to an average annual contribution of these polyols of < 0.1%–0.6% of OC in PM_{2.5} with a large variability according to the sites and the seasons. The relative contribution of sugar-alcohols to the fine particle OC fraction is commonly lower in PM_{2.5} than in PM₁₀, where it can reach a relative contribution of up to 3% for sites strongly impacted by agricultural activities in the fall season (Chow et al., 2015).

In our study, arabitol is the predominant compound of the 3 polyols measured (Table S1), representing more than 60% of these sugar-alcohols content in PM_{2.5}. Except for the Andra-OPE site, annual average concentrations ranged from 2.8 to 4.8 ng m⁻³ for arabitol, 0.4–1.2 ng m⁻³ for sorbitol and 1.5–3.5 ng m⁻³ for mannitol. Therefore, the yearly average concentrations of arabitol (10.2 ng m⁻³) and mannitol (10.1 ng m⁻³) in the samples collected at Andra-OPE site are higher by nearly a factor of 2 compared to the values reported for the other rural sites. These results suggest that continental terrestrial primary biogenic organic aerosols play a more significant role in the concentration of PM_{2.5} at this site, which is largely impacted by agricultural activities for tens of kilometers in all directions. The atmospheric concentrations of these compounds for the 4 other sites are in the same ranges than those reported for other studies at rural background sites (Table S1). Fig. 7 shows the temporal variability of the mannitol fraction of OC in PM_{2.5} collected at the 5 sites. These contributions and their temporal patterns are comparable at Verneuil, Dieulefit and Revin but there are significantly higher at Andra-OPE and lower at Peyrusse-Vieille.

Only at the North-Eastern sites, strong correlation was observed between arabitol and mannitol ($R = 0.95$ at Revin and $R = 0.96$ at Andra-OPE), which may indicate a similarity of fungal spores emissions and composition in PM_{2.5} at the regional scale of these sites (about 100 km). Indeed, a high diversity of fungal spores that may contain various levels of sugar-alcohols is observed in biota (Burshtein et al., 2011), depending on several parameters such as location, local meteorological conditions (e.g. rainfall amounts, night time and daily maximal temperatures, ambient relative humidity) or season (Tedesoo et al., 2006; Jones and Harrison, 2004). The monthly average ratios of

measured mannitol-to-arabitol in PM_{2.5} (Fig. 7) range from 0.2 to 1.2 with maximum values observed during the warm period (1.0–1.4) when the biological activity is the most intense (Yttri et al., 2011a). However the data at Peyrusse-Vieille, where the lowest compound concentration are observed, does not follow this trend, with an annual average ratio close to 0.4 corresponding to the ratio values reported in literature for the rural forested site in Finland (Carvalho et al., 2003). This could indicate the influence from different genera of fungi or plants between Peyrusse-Vieille and the other rural sites investigated.

The monthly average ratios of mannitol-to-arabitol at the Peyrusse-Vieille site increase from 0.4 to 0.8 in November, potentially suggesting a change in the polyols emission sources at that time. One hypothesis could be a link with the increase of the wood burning emissions at that time. Indeed, polyols have also been detected in fine particles from the burning of sugar cane leaves in Brazil (Urban et al., 2016, 2014) or in the smoke from many experimental wildfires in forest (Alves et al., 2010; Medeiros and Simoneit, 2008). However, in our study, these compounds were globally not correlated with levoglucosan during the winter period, showing that polyols are probably not directly emitted by the biomass combustion although biological species supported by plant material may be introduced into the smoke particles during the combustion process (Zangrando et al., 2016; Barbaro et al., 2015). One major difference between Peyrusse-Vieille and the other sites is related to the origin of the air masses for these polyols (cf PSCF part in S7), mainly coming from the Massif Central and the Landes coast, that could be associated with long-range transport of specific PBAP later in the year (Fig. 7). Nevertheless, for all sites, the distributions of geographical area of the potential emission sources show the terrestrial origin of these compounds (part in S7).

The 3-year time series at the Andra-OPE site, together with concurrent PM₁₀ and PM_{2.5} sampling, allow further observations. The sugars alcohols quantified at this site were mostly present in coarse particles as is shown on Fig. 8. This is in good agreement with several results reported in the literature where the mass size distribution of polyols exhibits a maximum at particle diameter > 2.5 μm (Elbert et al., 2007). However, some other studies present results with these compounds associated with fine mode PM, such as mannitol and arabitol in Boreal Forest (Carvalho et al., 2003). These observations could come from the different assemblages of fungal communities that are dominant at different sites (Zhang et al., 2010).

Organic carbon associated with fungal spores (OC_f) is calculated for the samples collected at this Andra-OPE site. The contribution of fungal spores to OC is determined following the procedure presented by Yttri et al. (2011a). Briefly, OC mass associated with fungal spores is calculated by applying an OC-to-arabitol conversion factor. This ratio is ranging from 7.2 to 18.6 g_{OC}:g_{arabitol}⁻¹ in the studies reported in the

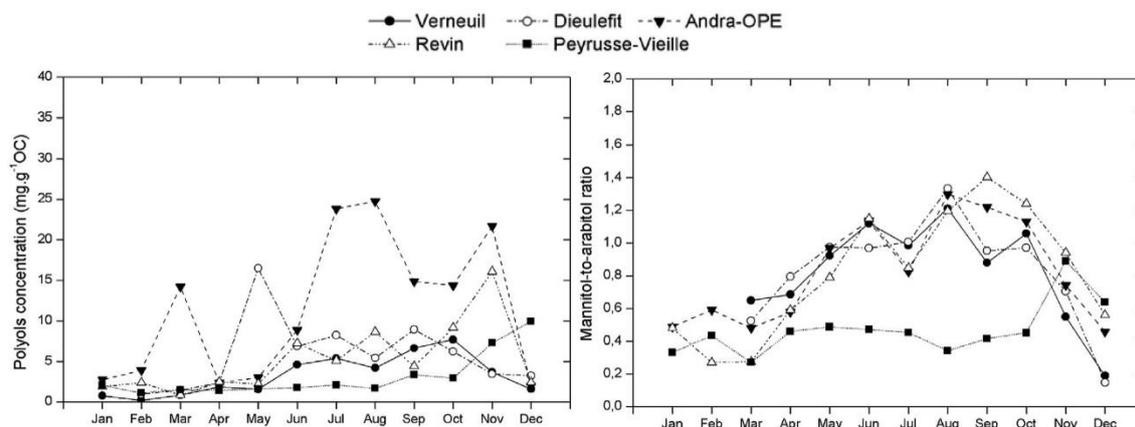


Fig. 7. Monthly variation of Mannitol (left) and Mannitol-to-Arabitol ratio (right) at the 5 rural background sites in PM_{2.5}.

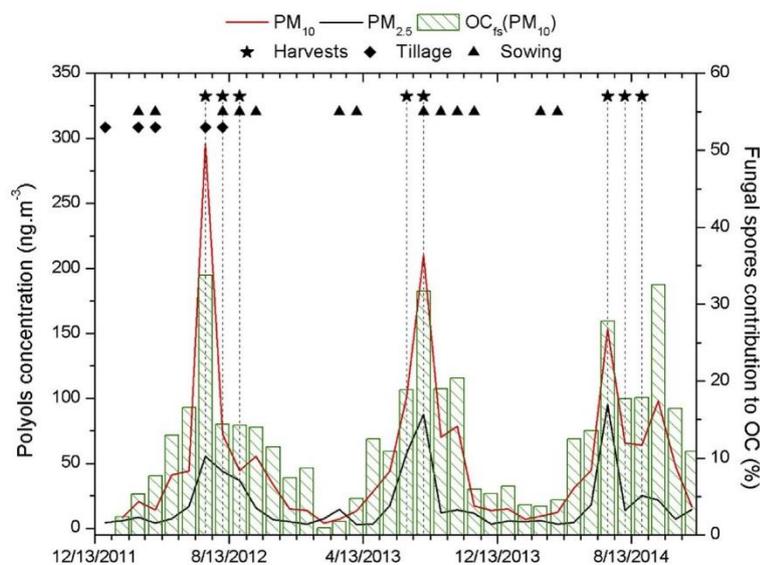


Fig. 8. Temporal evolution of Polyols concentrations in ng.m^{-3} between PM_{10} and $\text{PM}_{2.5}$ (red and black lines) and the relative contributions (%) of fungal spores to OC in PM_{10} (green bar). Spots indicate the major agricultural activities performed each month on the ANDRA-OPE site. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

literature (Bauer et al., 2008a, 2008b, 2002). In our study, we used an average value ($12.9 \text{ g}_{\text{OC}} \cdot \text{g}_{\text{arabitol}}^{-1}$). The results show (cf Fig. 8) that strong contributions of fungal spores are mainly observed during each summertime from 2012 to 2014, accounting at peak time for more than 30% of the OC in PM_{10} on a monthly average. This is consistent with the contribution of fungal spores to organic carbon in PM_{10} ranging from 4.6 to 26.1% at a remote site on the Hainan Island located off the south China coast (Zhang et al., 2010) and with the results reported in a source apportionment study by Positive Matrix Factorization including polyols as biomarkers, for an urban background site in Lens (North-Western France) (Favez et al., 2016; Waked et al., 2014). In these studies, the authors determined that this primary biogenic source contributed on average to 37% of the OC and 20% of the PM_{10} in summer.

The main agricultural activities performed each month at the Andra-OPE site are also reported in Fig. 8 (information is missing for the last 3 months). Higher polyols concentration were observed during each harvest period, while it is not the case during the periods of mechanical preparation of soil (tillage) and sowing. This highlights that the potential emission source of polyols is strongly linked to the harvest periods, in agreement with several studies reporting that polyols, especially arabitol and mannitol, have an essential role for plants and micro-organisms growth (Patel and Williamson, 2016; Véléz et al., 2007). Indeed, they are produced in large amounts by many fungi and bacteria as intercellular osmoprotectants and quencher of radical oxygenated species (Singh et al., 2015). The concentration of polyols is higher in the stroma of plants and can account up to 90% of the total soluble carbohydrates in it. Our results indicate that the emissions processes may be more related to plants and micro-organisms on them than to the soil biota.

Assuming a constant mass fraction OC-to-arabitol in spore for all sites and PM fraction (Gilardoni et al., 2011), we can estimate the mass fraction of OC associated with fungal spores in the $\text{PM}_{2.5}$ at our other sites. The annual average fraction of OC_{fs} range from 2.1 to 3.7% of the OC mass, except for the site of Andra-OPE where this contribution is higher (7.7%) for $\text{PM}_{2.5}$. This last contribution for the $\text{PM}_{2.5}$ is lower than that calculated for the PM_{10} , in agreement with the lower concentration of polyols measured in the $\text{PM}_{2.5}$ fraction (Fig. 8). The maxima of monthly average contributions are mainly observed during the end of summer and fall, reaching a range of contributions between 4.5 and 9.5% of OC. These results confirm that primary biogenic

emissions contribute significantly to the organic mass of the $\text{PM}_{2.5}$ in rural background sites in summer, on monthly time scales.

3.2.4. Secondary organic aerosol markers: oxalate

Organic acids measured in $\text{PM}_{2.5}$ during this study include low-molecular-weight organic acids such as oxalate (Ox), a derivative form of oxalic acid, and methane-sulfonic acid (MSA). They are both widely recognized as tracers of secondary organic aerosols (SOA) and originate from oxidation of various precursors (Ervens et al., 2004) and marine biogenic sources (Jaffrezo et al., 1994; Li et al., 1993), respectively (see Table 1).

Oxalic acid is generally the most abundant dicarboxylic acids in $\text{PM}_{2.5}$ collected in rural background sites (Laongsri and Harrison, 2013), followed by malonic and succinic acids (Table 2), in agreement with the global atmospheric distributions of low-molecular-weight dicarboxylic acids recently documented by Kawamura and Bikkina (2016). The sources of oxalate in PM include both primary and secondary emissions originating from biogenic and anthropogenic sources, such as the transformation of marine gas precursor (Rinaldi et al., 2011) or biomass burning (Kundu et al., 2010). Table 2 shows that the concentrations measured for oxalate during this study are within the range of reported values for continental rural background sites ($20\text{--}250 \text{ ng m}^{-3}$). The highest values were reported for sites impacted by the long range transport of aerosol or maritime air, reaching an average of $400\text{--}500 \text{ ng m}^{-3}$ in $\text{PM}_{2.5}$ (Laongsri and Harrison, 2013; Kawamura et al., 2004; Kerminen et al., 2000). Our annual averaged values range from 61.7 to 95.5 ng m^{-3} for oxalate with maximum values recorded at Dieulefit and minimum values at Peyrusse-Veille.

Correlations (R) between oxalate and ammonium sulfate in our series are ranging from 0.83 to 0.89, suggesting that oxalate, like ammonium sulfate, mostly originates from secondary formation and is more related to long range transport than local sources. Only for Revin is observed a weaker correlation between both species ($R = 0.4$), maybe indicating different formation pathways or emission sources at this site. Strong correlations were also observed between oxalate, nitrate and sulfate in a study conducted in a UK rural background site (Laongsri and Harrison, 2013), together with increased concentrations in the warm periods. Despite these correlations, it should be noted that all attempts in our group to include oxalate in PMF studies for source apportionment (Favez et al., 2016) were unsuccessful, a possible indication that concentrations of oxalate are not stable enough to provide

Table 1
Concentrations (ng.m⁻³) of primary organic marker compounds in PM samples collected at different locations and seasons.

Reference	Locations	Season	Particle size	Sugar-alcohols		M/A ratio	Monosaccharides		Anhydrosugars	
				Arabitol	Mannitol		Glucose	Levoglucofan	Mannosan	Galactosan
(Carvalho et al., 2003)	Rural site near large forest (Finland)	spring	PM10	1.4–241	< 0.5–88	0.36–0.365	1.3–41			
	Urban site (Germany)	spring	PM10	4.2–35	1.6–23	0.38–0.66	28–180			
(Ion et al., 2005)	Rural background (Hungary)	June	PM2.5	0.69–25	0.62–29	0.90–1.16		3.5–95		
(Kourtschev et al., 2005)	Rural site near large forest (Finland)	summer	PM1	1.34	1.94	1.45		10		
		fall	PM1	0.79	0.69	0.87		29.1		
(Medeiros et al., 2006)	Forest site (USA)	may–oct	TSP	0.7–6.6	0.9–10.2	1.29–1.5		1.0–55.1	7.6–10.4	1.1–2.6
(Yitri et al., 2007b)	Rural background site	all seasons	PM10	6	4.3	0.72	3.7	7.8		
		all seasons	PM2.5	0.42	0.27	0.64	1.2			
(Zhang et al., 2010)	Tropical forest	spring	PM10	44	71	1.61				
		spring	PM2.5	7	16	2.29				
(Yitri et al., 2011a)	Nordic rural background sites	summer	PM10	10–24	13–30	1.0–1.42		2.1–9.8	0.39–1.3	0.06–0.35
(Yitri et al., 2011b)	Rural site (Norway)	march/june–july	PM10		0.65/45	1.1/1.5		52/10		
	Urban site (Norway)	march/june–july	PM10		2.9/25	1.3/1.4		130/40		
(Burshtein et al., 2011)	Urban coastal site	spring	PM10	14.0	17.7	1.26				
		summer	PM10	10.6	15.1	1.42				
		fall	PM10	18.9	49.2	2.60				
		winter	PM10	8.4	22.0	2.60				
(Gillardoni et al., 2011)	Rural background site (Ispra)	All seasons	PM2.5	2.9	4.2	1.45		1300		
(Fu et al., 2012)	Jeju Island (China)	spring	TSP	6.7	5.5	0.82	18	38		
		summer	TSP	9.6	11	1.15	9.6	8		
		fall	TSP	12	12	1.00	16	35		
		winter	TSP	4.7	3.4	0.72	7.3	62		
(Urban et al., 2016)	Agro-industrial site (Brazil)	apr–nov (harvest)	PM10	19	7	0.37		320	36	33
		dec–mar (non harvest)	PM10	33	25	0.76		43	8	5
(Fu et al., 2016)	Central rural site (Taklimakan Desert)	apr	PM2.5	0.15	0.1	0.67		2.6		
	Urban site (Taklimakan desert)	apr	PM2.5	4.1	1.1	0.27		1.98		
(Barbaro et al., 2015)	Antarctica coastal site	summer	PM10 (pg.m-3)	3.52–53.3	1.28–17.76	0.33–0.36	51.6–664.4	3–13.37		
	Antarctica continental site	summer	PM10 (pg.m-3)	0.03–0.08			312.1–317.9	0.18–0.72		
(Zangrando et al., 2016)	Urban site (Serbia)	Fall–winter	TSP	62.5	35.9	0.57	21.6	424.9		
(Zhu et al., 2018)	Urban site (China)	May–June	PM2.5	3.86	5.79	1.5				

Table 2
 Concentrations (ng.m⁻³) of secondary organic marker compounds in PM samples collected at different locations and seasons.

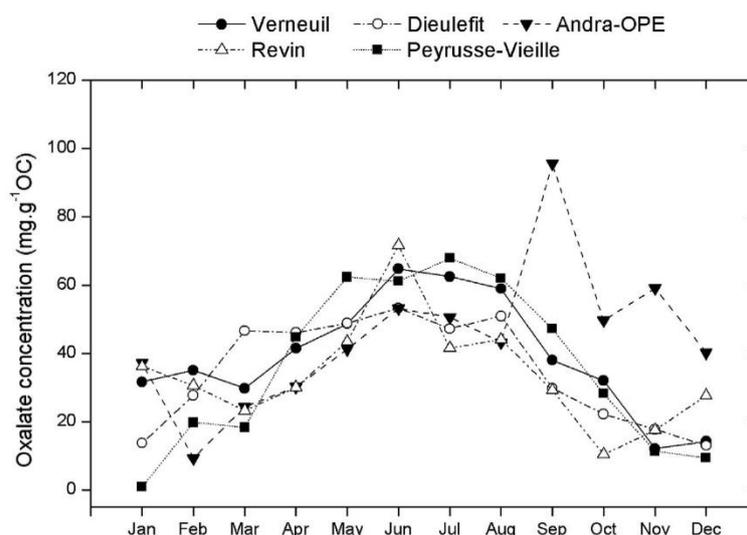
Reference	Locations	Season	Particle size	Dicarboxylic acids			
				Oxalate (Oxalic derivative form)	Malonic	Succinic	MSA
(Kerminen et al., 2000)	Rural/Urban sites (Finland)	all seasons	PM2.5	20–400	3.0–52.0	2.0–43.0	5.0–115.0
(Kawamura et al., 2004)	Rural site (Island)	all seasons	TSP	473	67	52	
(Decesari et al., 2006)	Pasture (Brazil)	fall	PM2.5	153	149	24.1	
(Saarikoski et al., 2007)	Urban site (Finland)	apr 06	PM2.5	50			
(Gómez-González et al., 2012)	Industrialised harbour city (Belgium)	june–july 07	PM2.5	50–140	28–82	5.7–54	46–119
(Pio et al., 2008)	Urban site (Portugal)	summer-fall	PM2.5	359.5	31.3	19.1	
(Facchini et al., 2008)	North Atlantic Ocean (Ireland)	june–july	PM0.1–10				40–120
(Müller et al., 2009)	North Atlantic Ocean (Cap verde)	may	PM1.2				0.6–20
		june					0.2–0.8
		dec					1.0–7.0
(Miyazaki et al., 2014, 2010)	Subarctic North Pacific	summer	PM2.5	20–80	27.0	20.7	7.0–35.0
(Dall'Osto et al., 2010)	Oceanic						50.0–280.0
Maenhaut et al., 2011	Rural background (Hungary)	winter	PM2.5	56–85	24–37	26–38	12.2–44
		summer		154–250	50–76	100–166	22–36
	Rural site near large forest (Finland)	summer	PM2.5	67–132	10–33	4.4–23	31–58
(Chen et al., 2012)	Equator	summer	TSP				10–50
	Polar regions						160–250
(Crippa et al., 2013)	Urban site (France)	july	PM2.5				22–330
(Laongsri and Harrison, 2013)	Rural site (UK)	jul–dec 10	PM2.5	200			
			PM10	400			
	Urban site (UK)	nov 08 – apr 11	PM2.5	500			
			PM10	600			
(Nirmalkar et al., 2015)	Rural site (India)	oct–nov 11	PM2.5	184	12.6	14.9	

a proper “secondary organic” factor, conversely to ammonium-sulfate or ammonium-nitrate.

However, remarkable similar temporal patterns of monthly average contributions of oxalate to OC are observed for the 5 French rural background sites, with the highest values observed during summer, reaching 5%–7% of the OC mass (Fig. 9). This monthly trend for particulate oxalate shows clearly an increase of contributions during the warm period (e.g. from May to August), that could be linked to the occurrence of formation processes at a large regional scale. Indeed, during this period, oxalate concentrations are expected to increase due to important sun radiation levels and higher surface air temperatures which favor photo-chemical processes leading to oxalate formation

(Kerminen et al., 2000). All of this agrees with oxalic acid being formed as a late generation oxidation product in aged air masses during long range transport.

The relative contributions of oxalate in organic matter at the Andra-OPE site is higher by nearly a factor of 3 during the fall/beginning of winter period (Sept.–Dec.) when compared to the values reported for the other rural sites (Fig. 9). This observation is not explained yet, but could be related to several processes: (i) possible contributions of specific emissions in the area, including agricultural activities (ii) a larger impact of heterogeneous formation processes in fog, for a continental site with prominent bare grounds prone to such events (iii) a larger impact of long range transport events than at some of the other sites, as


 Fig. 9. Monthly variation of oxalate at the 5 rural background sites in PM_{2.5}.

reported with the PSCF study in Fig. S8.

3.2.5. Secondary organic aerosol markers: MSA

MSA is considered as an oxidation product of dimethylsulfide (DMS) mainly released from marine phytoplankton, and it has been proposed as a useful tracer to separate sulfate of marine biogenic origin from other sources in many studies (Chen et al., 2012).

The annual average concentrations measured at the 5 sites are very similar and range from 23 to 37 ng m⁻³. But the concentrations present a strong seasonal cycle, with maxima during the warm period. Similar annual patterns are observed in previous studies performed at coastal sites (Facchini et al., 2008; Müller et al., 2009) and are clearly attributed to marine phytoplankton blooming together with rapid DMS conversion to MSA in summer. In our study, these maximum concentrations present significant differences during the warm period (e.g. from May to August) according to the site. Indeed, summer concentrations of MSA were in the range 23–355 ng m⁻³ for Verneuil, 23–235 ng m⁻³ for Andra-OPE and 17–419 ng m⁻³ for Revin, while it reaches only 17–186 ng m⁻³ for Dieulefit and Peyrusse-Vieille. These concentrations, among the first ones for inland sites in Europe, are within the range of the values reported at other sites (Table 2), where daily summer concentrations of MSA ranged from 22 to 330 ng m⁻³ in Paris (Crippa et al., 2013), 46–119 ng m⁻³ in a Belgian harbour (Gómez-González et al., 2012) or 40–120 ng m⁻³ at a Irish marine site (Facchini et al., 2008).

Fig. 10 shows the monthly average mass contribution of MSA to OC in PM_{2.5} at the 5 sites. It shows this strong seasonality, with the highest concentrations observed during summer and nearly null concentrations in winter.

MSA is mainly produced from DMS, while non-sea salt sulfate has a variety of sources including atmospheric DMS oxidation, volcanic and anthropogenic sulfur emissions. Following a similar method described in details by Kouvarakis and Mihalopoulos (2002), the relative contributions of marine biogenic sulfate to total non-sea-salt sulfate can be estimated on the basis of the theoretical MSA to nss-SO₄²⁻ ratio calculated in pure marine conditions. In this study, we used a ratio of 0.1 reported in the literature (Chen et al., 2012; Gondwe et al., 2004).

This lead to maximum monthly average values during the summer season, with contributions of biogenic sulfate to total sulfate ranging from 4 to 5% at Dieulefit, Peyrusse-Vieille, Revin and Andra-OPE. An average monthly value of 10% is calculated at Verneuil for June 2013.

In winter, the contributions of the marine biogenic source to total nss-SO₄²⁻ are, as expected, much lower, and range from 0.3 to 2%. Taking into account the uncertainties of this approach, these results indicate that during the summer season, marine biogenic source can have a small but significant contribution to the formation of nss-SO₄²⁻ in rural areas.

One question raised with these results is that MSA concentrations are not correlated with ionic species from marine aerosols, such as sodium and magnesium ($R < 0.1$ for Na⁺ and $R < 0.11$ for Mg²⁺, for all sites) (Fig. S4). Furthermore, the ratios between ions of marine origin (Na⁺, Mg²⁺, Cl⁻) are often departing from the sea water ratio during these days of high MSA concentration. Finally, the geographical origins of MSA emission sources determined by the PSCF analysis are reported in Fig. 11. Only the back-trajectories associated with the higher 25% (75th percentile) of the MSA concentrations were used for defining the main source regions for each site. This threshold value of MSA concentration was chosen to have the best geographical representativity of the maximum concentrations. These results show a large probability of source origins from the marine areas in the North of France, but also many areas of origin (at 3 days) in continental areas.

Hence, the 3 points above seem to indicate that a potential terrestrial additional source of MSA can be significant in continental environments due to DMS emissions from soil or leaf litter. Indeed, a recent study indicate such a potential for emission pathways of MSA via a terrestrial biogenic source for rural sites in Northern Europe (Bozzetti et al., 2017). Also, in freshwater environments, DMS production may occur in anoxic and oxic regions in lakes, resulting from the degradation of aromatic compounds in sediments and phytoplankton activity, respectively (Schäfer et al., 2010). Finally, several recent studies proposed a possible source of MSA from the forest biota by the significant emission of DMS from Amazon soils (Jardine et al., 2015), or from the forest floor (Miyazaki et al., 2012). These production pathways for atmospheric particulate MSA remain to be studied.

4. Conclusion

During this study conducted over one year from January to December 2013 at 5 rural background sites in France, we measured a large set of specific organic markers such as sugars, sugar-alcohols and organic acids. These measurements indicate:

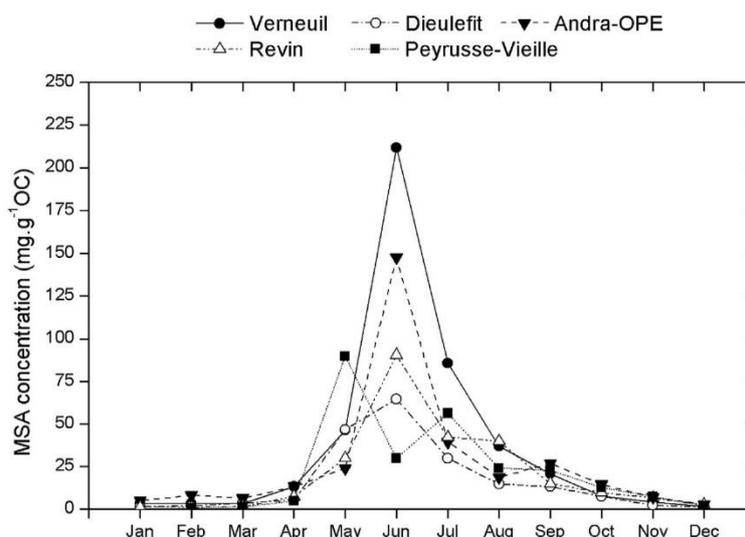


Fig. 10. Monthly variation of MSA at the 5 rural background sites in PM_{2.5}.

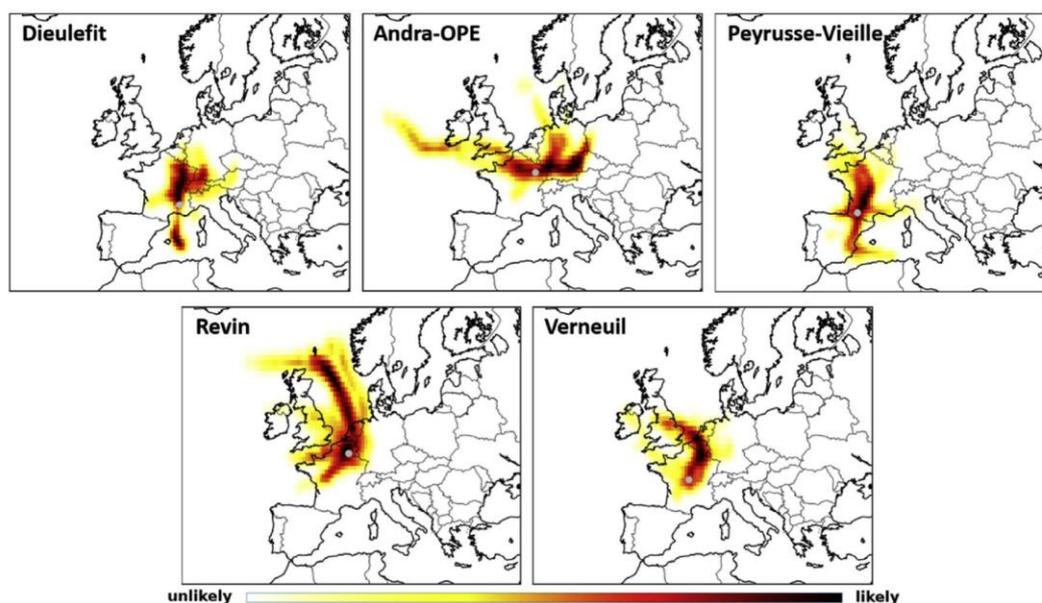


Fig. 11. PSCF probability of geographical origins of MSA emission sources for each site.

- The concentrations measured for chemical components during this study are within the range of reported values for studies conducted in the European region, highlighting similarities at the continental scale.
- Similar time series and annual cycles were observed for carbonaceous components (EC and OC), biomass burning tracers (levoglucosan and its isomers) and secondary organic tracers (oxalate and MSA) at the 5 rural background sites. These results suggest a large-scale influence of the sources and processes leading to these chemical species in PM_{2.5}, particularly during the winter and summer seasons.
- Biomass burning tracers simultaneously increased during fall/winter seasons due to the use of wood combustion for domestic heating and reached 4%–10% of the OC mass in PM_{2.5} samples. PSCF analysis showed the significant contribution of air masses from the North and North-Eastern part of Europe in agreement with the location of urban regions and high-density areas.
- Secondary organic markers (oxalate and MSA) are not correlated but each one present synchronous evolution at the 5 sites. High concentration of MSA at the 5 sites may be partly due to DMS emissions by terrestrial environment during warm period as supported by PSCF analysis and the lack of correlation between MSA and sea salt ions. This hypothesis open new venues for research on the sources for this compound in the atmosphere.
- In contrast, a large variability is observed for primary biogenic markers (sugar-alcohols) between each rural site suggesting an important contribution of the local emission sources for these compounds in the PM_{2.5}. A first approximation of fungal spore concentrations indicates values up to 30% of total OC, during harvesting period at one of the site, highlighting the importance of this primary source to total OC.

Acknowledgements

All of the authors would like to thank the staff from the 5 stations for their dedication to maintain the samplings with a very high degree of completion during this one year 2013, and IT Lille Douai as coordinator of the MERA program. Authors thank S. Sauvage (IT Lille Douai) for his helpful comments on the manuscript.

This work was supported by the French Ministry of Environment and the national reference laboratory for air quality monitoring (LCSQA). The work at ANDRA-OPE is funded by ANDRA under convention ENVCNASOS110135 with LGGE/IGE. The work at Revin and Peyrusse-Vieille was funded by ADEME program referenced 1062c0008. The work at Dieulefit and Verneuil were funded with specific conventions between IGE laboratory, Atmo Auvergne-Rhône-Alpes and LIGAIR, respectively. The Labex OSUG@2020 (ANR-10-LABX-56) provided the funding for analytical equipment at IGE.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.10.027>.

References

- Alastuey, A., Querol, X., Aas, W., Lucarelli, F., Pérez, N., Moreno, T., Cavalli, F., Areskou, H., Balan, V., Catrambone, M., Ceburnis, D., Cerro, J.C., Conil, S., Gevorgyan, L., Hueglin, C., Imre, K., Jaffrezo, J.-L., Leeson, S.R., Mihalopoulos, N., Mitosinkova, M., O'Dowd, C.D., Pey, J., Putaud, J.-P., Riffault, V., Ripoll, A., Sciare, J., Sellegri, K., Spindler, G., Yttri, K.E., 2016. Geochemistry of PM₁₀ over Europe during the EMEP intensive measurement periods in summer 2012 and winter 2013. *Atmos. Chem. Phys.* 16, 6107–6129. <https://doi.org/10.5194/acp-16-6107-2016>.
- Alves, C.A., Gonçalves, C., Evtuygina, M., Pio, C.A., Mirante, F., Puxbaum, H., 2010. Particulate organic compounds emitted from experimental wildland fires in a Mediterranean ecosystem. *Atmos. Environ.* 44, 2750–2759. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2010.04.029>.
- Ashbaugh, L.L., Malm, W.C., Sadeh, W.Z., 1985. A residence time probability analysis of sulfur concentrations at grand Canyon National Park. *Atmos. Environ.* 19(19), 1263–1270. [https://doi.org/10.1016/0004-6981\(85\)90256-2](https://doi.org/10.1016/0004-6981(85)90256-2).
- Aymoz, G., Jaffrezo, J., Chapuis, D., Cozic, J., Maenhaut, W., 2007. Seasonal variation of PM 10 main constituents in two valleys of the French Alps. I: EC/OC fractions. *Atmos. Chem. Phys.* 7, 661–675.
- Barbaro, E., Kirchgeorg, T., Zangrando, R., Vecchiato, M., Piazza, R., Barbante, C., Gambaro, A., 2015. Sugars in antarctic aerosol. *Atmos. Environ.* 118, 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.07.047>.
- Bauer, H., Claeys, M., Vermeylen, R., Schueller, E., Weinke, G., Berger, A., Puxbaum, H., 2008a. Arabitol and mannitol as tracers for the quantification of airborne fungal spores. *Atmos. Environ.* 42, 588–593. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2007.10.013>.
- Bauer, H., Kasper-Giebl, A., Zibuschka, F., Hitzzenberger, R., Kraus, G.F., Puxbaum, H., 2002. Determination of the carbon content of airborne fungal spores. *Anal. Chem.* 74, 91–95. <https://doi.org/10.1021/ac010331+>.
- Bauer, H., Schueller, E., Weinke, G., Berger, A., Hitzzenberger, R., Marr, I.L., Puxbaum, H., 2008b. Significant contributions of fungal spores to the organic carbon and to the

- aerosol mass balance of the urban atmospheric aerosol. *Atmos. Environ.* 42, 5542–5549. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.03.019>.
- Belis, C., Karagulian, F., Larsen, B., Hopke, P., 2013. Critical review and meta-analysis of ambient particulate matter source apportionment using receptor models in Europe. *Atmos. Environ.* 69, 94–108.
- Bertrand, A., 2017. Atmospheric Aging of the Biomass Burning Organic Aerosol: from the Secondary Organic Aerosol Production Potential to the Modification of the Chemical Fingerprint at the Molecular Level (Theses). Aix Marseille Université.
- Bertrand, A., Stefanelli, G., Jen, C.N., Pieber, S.M., Bruns, E.A., Temime-Roussel, B., Slowik, J.G., Goldstein, A.H., El Haddad, I., Baltensperger, U., Prévôt, A.S.H., Wortham, H., Marchand, N., 2018. Evolution of the chemical fingerprint of biomass burning organic aerosol during aging. *Atmos. Chem. Phys. Discuss.* 1–33. 2018. <https://doi.org/10.5194/acp-2017-1196>.
- Besombes, J.-L., Cozic, J., Duval, M., Hulín, A., Jaffrezo, J.-L., Pakulic, C., Piot, C., Racher, A., 2011. Particul'air: étude inter-régionale de la pollution particulaire en zone rurale.
- Birch, M.E., Cary, R.A., 1996. Elemental carbon-based method for monitoring occupational exposures to particulate diesel exhaust. *Aerosol Sci. Technol.* 25, 221–241. <https://doi.org/10.1080/02786829608965393>.
- Bond, T.C., Streets, D.G., Yarber, K.F., Nelson, S.M., Woo, J.-H., Klimont, Z., 2004. A technology-based global inventory of black and organic carbon emissions from combustion. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 109, D14203. <https://doi.org/10.1029/2003JD003697>.
- Bozzetti, C., Sosedova, Y., Xiao, M., Daellenbach, K.R., Ulevicic, V., Dudoitis, V., Mordas, G., Bycenkienė, S., Plauskaitė, K., Vlachou, A., Golly, B., Chazeau, B., Besombes, J.-L., Baltensperger, U., Jaffrezo, J.-L., Slowik, J.G., El Haddad, I., Prévôt, A.S.H., 2017. Argon offline-AMS source apportionment of organic aerosol over yearly cycles for an urban, rural, and marine site in northern Europe. *Atmos. Chem. Phys.* 17, 117–141. <https://doi.org/10.5194/acp-17-117-2017>.
- Bressi, M., Sciare, J., Gheri, V., Bonnaire, N., Nicolas, J.B., Petit, J.-E., Moukhtar, S., Rosso, A., Mihalopoulos, N., Féron, A., 2013. A one-year comprehensive chemical characterisation of fine aerosol (PM_{2.5}) at urban, suburban and rural background sites in the region of Paris (France). *Atmos. Chem. Phys.* 13, 7825–7844. <https://doi.org/10.5194/acp-13-7825-2013>.
- Bressi, M., Sciare, J., Gheri, V., Mihalopoulos, N., Petit, J.-E., Nicolas, J.B., Moukhtar, S., Rosso, A., Féron, A., Bonnaire, N., Poulakis, E., Theodosi, C., 2014. Sources and geographical origins of fine aerosols in Paris (France). *Atmos. Chem. Phys.* 14, 8813–8839. <https://doi.org/10.5194/acp-14-8813-2014>.
- Burshtein, N., Lang-Yona, N., Rudich, Y., 2011. Ergosterol, arabitol and mannitol as tracers for biogenic aerosols in the eastern Mediterranean. *Atmos. Chem. Phys.* 11, 829–839. <https://doi.org/10.5194/acp-11-829-2011>.
- Carvalho, A., Pio, C., Santos, C., 2003. Water-soluble hydroxylated organic compounds in German and Finnish aerosols. *Atmos. Environ.* 37, 1775–1783. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(03\)00066-9](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(03)00066-9).
- Caseiro, A., Bauer, H., Schmid, C., Pio, C.A., Puxbaum, H., 2009. Wood burning impact on PM₁₀ in three Austrian regions. *Atmos. Environ.* 43, 2186–2195. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2009.01.012>.
- Caseiro, A., Marr, I.L., Claeys, M., Kasper-Giebl, A., Puxbaum, H., Pio, C.A., 2007. Determination of saccharides in atmospheric aerosol using anion-exchange high-performance liquid chromatography and pulsed-amperometric detection. *J. Chromatogr. A* 1171, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.09.038>.
- Cavalli, F., Viana, M., Yttri, K.E., Genberg, J., Putaud, J.-P., 2010. Toward a standardised thermal-optical protocol for measuring atmospheric organic and elemental carbon: the EUSAAR protocol. *Atmos. Meas. Tech.* 3, 79–89. <https://doi.org/10.5194/amt-3-79-2010>.
- Chan, T., Huang, L., Leatch, W., Sharma, S., Brook, J., Slowik, J., Abbott, J., Brickell, P., Liggio, J., Li, S.-M., 2010. Observations of OM/OC and specific attenuation coefficients (SAC) in ambient fine PM at a rural site in central Ontario, Canada. *Atmos. Chem. Phys.* 10, 2393–2411.
- Chen, L., Wang, J., Gao, Y., Xu, G., Yang, X., Lin, Q., Zhang, Y., 2012. Latitudinal distributions of atmospheric MSA and MSA/nss-SO₄²⁻ ratios in summer over the high latitude regions of the Southern and Northern Hemispheres. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 117, D10306. <https://doi.org/10.1029/2011JD016559>.
- Chow, J.C., Yang, X., Wang, X., Kohl, S.D., Hurbain, P.R., Chen, L.W.A., Watson, J.G., 2015. Characterization of ambient PM₁₀ bioaerosols in a California agricultural town. *Aerosol. Air Qual. Res.* 15. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2014.12.0313>.
- Crippa, M., El Haddad, I., Slowik, J.G., DeCarlo, P.F., Mohr, C., Heringa, M.F., Chirico, R., Marchand, N., Sciare, J., Baltensperger, U., Prévôt, A.S.H., 2013. Identification of marine and continental aerosol sources in Paris using high resolution aerosol mass spectrometry. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 118, 1950–1963. <https://doi.org/10.1002/jgrd.50151>.
- Daellenbach, K.R., Stefanelli, G., Bozzetti, C., Vlachou, A., Fermo, P., Gonzalez, R., Piazzalunga, A., Colombi, C., Canonaco, F., Hueglin, C., Kasper-Giebl, A., Jaffrezo, J.-L., Bianchi, F., Slowik, J.G., Baltensperger, U., El-Haddad, I., Prévôt, A.S.H., 2017. Long-term chemical analysis and organic aerosol source apportionment at nine sites in central Europe: source identification and uncertainty assessment. *Atmos. Chem. Phys.* 17, 13265–13282. <https://doi.org/10.5194/acp-17-13265-2017>.
- Dall'Osto, M., Ceburnis, D., Martucci, G., Bialek, J., Dupuy, R., Jennings, S.G., Berresheim, H., Wenger, J., Healy, R., Facchini, M.C., Rinaldi, M., Giulianelli, L., Finessi, E., Worsnop, D., Ehn, M., Mikilä, J., Kulmala, M., O'Dowd, C.D., 2010. Aerosol properties associated with air masses arriving into the North East Atlantic during the 2008 Mace Head EUCAARI intensive observing period: an overview. *Atmos. Chem. Phys.* 10, 8413–8435. <https://doi.org/10.5194/acp-10-8413-2010>.
- Decesari, S., Fuzzi, S., Facchini, M.C., Mircea, M., Emblico, L., Cavalli, F., Maenhaut, W., Chi, X., Schkolnik, G., Falkovich, A., Rudich, Y., Claeys, M., Pashynska, V., Vas, G., Kourtchev, I., Vermeylen, R., Hoffer, A., Andreae, M.O., Tagliavini, E., Moretti, F., Artaxo, P., 2006. Characterization of the organic composition of aerosols from Rondônia, Brazil, during the LBA-SMOCC 2002 experiment and its representation through model compounds. *Atmos. Chem. Phys.* 6, 375–402. <https://doi.org/10.5194/acp-6-375-2006>.
- Després, V., Huffman, J.A., Burrows, S.M., Hoese, C., Safatov, A., Buryak, G., Fröhlich-Nowoisky, J., Elbert, W., Andreae, M., Pöschl, U., Jaenicke, R., 2012. Primary biological aerosol particles in the atmosphere: a review. *Tellus B Chem. Phys. Meteorol.* 64, 15598. <https://doi.org/10.3402/tellusb.v64i0.15598>.
- Dusek, U., Hitznerberger, R., Kasper-Giebl, A., Kistler, M., Meijer, H.A.J., Szidat, S., Wacker, L., Holzinger, R., Röckmann, T., 2017. Sources and formation mechanisms of carbonaceous aerosol at a regional background site in The Netherlands: insights from a year-long radiocarbon study. *Atmos. Chem. Phys.* 17, 3233–3251. <https://doi.org/10.5194/acp-17-3233-2017>.
- El Haddad, I., Marchand, N., Dron, J., Temime-Roussel, B., Quivet, E., Wortham, H., Jaffrezo, J.L., Baduel, Christine, Voisin, D., Besombes, J.-L., Gille, G., 2009. Comprehensive primary particulate organic characterization of vehicular exhaust emissions in France. *Atmos. Environ.* 43, 6190–6198. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2009.09.001>.
- El Haddad, I., Marchand, N., Temime-Roussel, B., Wortham, H., Piot, C., Besombes, J.-L., Baduel, C., Voisin, D., Armengaud, A., Jaffrezo, J.-L., 2011. Insights into the secondary fraction of the organic aerosol in a Mediterranean urban area: Marseille. *Atmos. Chem. Phys.* 11, 2059–2079. <https://doi.org/10.5194/acp-11-2059-2011>.
- Elbert, W., Taylor, P.E., Andreae, M.O., Pöschl, U., 2007. Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: wet and dry discharged spores, carbohydrates, and inorganic ions. *Atmos. Chem. Phys.* 7, 4569–4588. <https://doi.org/10.5194/acp-7-4569-2007>.
- Ervens, B., Feingold, G., Frost, G.J., Kreidenweis, S.M., 2004. A modeling study of aqueous production of dicarboxylic acids: 1. Chemical pathways and speciated organic mass production. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 109, D15205. <https://doi.org/10.1029/2003JD004387>.
- Facchini, M.C., Decesari, S., Rinaldi, M., Carbone, C., Finessi, E., Mircea, M., Fuzzi, S., Moretti, F., Tagliavini, E., Ceburnis, D., O'Dowd, C.D., 2008. Important source of marine secondary organic aerosol from biogenic amines. *Environ. Sci. Technol.* 42, 9116–9121. <https://doi.org/10.1021/es0818385>.
- Favez, O., El Haddad, I., Piot, C., Boréave, A., Abidi, E., Marchand, N., Jaffrezo, J.-L., Besombes, J.-L., Personnaz, M.-B., Sciare, J., Wortham, H., George, C., D'Anna, B., 2010. Inter-comparison of source apportionment models for the estimation of wood burning aerosols during wintertime in an Alpine city (Grenoble, France). *Atmos. Chem. Phys.* 10, 5295–5314. <https://doi.org/10.5194/acp-10-5295-2010>.
- Favez, O., Salameh, D., Jaffrezo, J.L., 2016. Traitement harmonisé de jeux de données multi-sites pour l'étude de sources de PM par Positive Matrix Factorization (PMF) | LCSQA. LCSQA.
- Fine, P.M., Cass, G.R., Simoneit, B.R., 2004. Chemical characterization of fine particle emissions from the fireplace combustion of wood types grown in the Midwestern and Western United States. *Environ. Eng. Sci.* 21, 387–409.
- Fine, P.M., Cass, G.R., Simoneit, B.R.T., 2001. Chemical characterization of fine particle emissions from fireplace combustion of woods grown in the northeastern United States. *Environ. Sci. Technol.* 35, 2665–2675. <https://doi.org/10.1021/es001466k>.
- Fröhlich-Nowoisky, J., Kampf, C.J., Weber, B., Huffman, J.A., Pöhlker, C., Andreae, M.O., Lang-Yona, N., Burrows, S.M., Gunthe, S.S., Elbert, W., Su, H., Hoor, P., Thines, E., Hoffmann, T., Després, V.R., Pöschl, U., 2016. Bioaerosols in the Earth system: climate, health, and ecosystem interactions. *Atmos. Res.* 182, 346–376. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2016.07.018>.
- Fu, P., Kawamura, K., Kobayashi, M., Simoneit, B.R.T., 2012. Seasonal variations of sugars in atmospheric particulate matter from Gosan, Jeju Island: significant contributions of airborne pollen and Asian dust in spring. *Atmos. Environ.* 55, 234–239. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.02.061>.
- Fu, P., Zhuang, G., Sun, Y., Wang, Q., Chen, J., Ren, L., Yang, F., Wang, Z., Pan, X., Li, X., Kawamura, K., 2016. Molecular markers of biomass burning, fungal spores and biogenic SOA in the Taklimakan desert aerosols. *Atmos. Environ.* 130, 64–73. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.10.087>.
- Fu, P.Q., Kawamura, K., Chen, J., Charrière, B., Sempéré, R., 2013. Organic molecular composition of marine aerosols over the Arctic Ocean in summer: contributions of primary emission and secondary aerosol formation. *Biogeosciences* 10, 653–667. <https://doi.org/10.5194/bg-10-653-2013>.
- Gianini, M.F.D., Fischer, A., Gehrig, R., Ulrich, A., Wichser, A., Piot, C., Besombes, J.-L., Hueglin, C., 2012. Comparative source apportionment of PM₁₀ in Switzerland for 2008/2009 and 1998/1999 by Positive Matrix Factorisation. *Atmos. Environ.*
- Genelcsér, A., May, B., Simpson, D., Sánchez-Ochoa, A., Kasper-Giebl, A., Puxbaum, H., Caseiro, A., Pio, C., Legrand, M., 2007. Source apportionment of PM_{2.5} organic aerosol over Europe: primary/secondary, natural/anthropogenic, and fossil/biogenic origin. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 112, D23S04. <https://doi.org/10.1029/2006JD008094>.
- Gilardoni, S., Vignati, E., Cavalli, F., Putaud, J.P., Larsen, B.R., Karl, M., Stenström, K., Genberg, J., Henne, S., Dentener, F., 2011. Better constraints on sources of carbonaceous aerosols using a combined 14C – macro tracer analysis in a European rural background site. *Atmos. Chem. Phys.* 11, 5685–5700. <https://doi.org/10.5194/acp-11-5685-2011>.
- Glasius, M., Hansen, A.M.K., Claeys, M., Henzing, J.S., Jedynska, A.D., Kasper-Giebl, A., Kistler, M., Kristensen, K., Martinsson, J., Maenhaut, W., Nøjgaard, J.K., Spindler, G., Stenström, K.E., Swietlicki, E., Szidat, S., Simpson, D., Yttri, K.E., 2018. Composition and sources of carbonaceous aerosols in Northern Europe during winter. *Atmos. Environ.* 173, 127–141. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.11.005>.
- Gómez-González, Y., Wang, W., Vermeylen, R., Chi, X., Neiryneck, J., Janssens, I.A., Maenhaut, W., Claeys, M., 2012. Chemical characterisation of atmospheric aerosols during a 2007 summer field campaign at Brasschaat, Belgium: sources and source

- processes of biogenic secondary organic aerosol. *Atmos. Chem. Phys.* 12, 125–138. <https://doi.org/10.5194/acp-12-125-2012>.
- Gondwe, M., Krol, M., Klaassen, W., Gieskes, W., de Baar, H., 2004. Comparison of modeled versus measured MSA:ns SO₄ ratios: a global analysis. *Global Biogeochem. Cycles* 18. <https://doi.org/10.1029/2003GB002144>.
- Graham, B., Guyon, P., Taylor, P.E., Artaxo, P., Maenhaut, W., Glovsky, M.M., Flagan, R.C., Andreae, M.O., 2003. Organic compounds present in the natural Amazonian aerosol: characterization by gas chromatography–mass spectrometry. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 108, 4766. <https://doi.org/10.1029/2003JD003990>.
- Grythe, H., Ström, J., Krejci, R., Quinn, P., Stohl, A., 2014. A review of sea-spray aerosol source functions using a large global set of sea salt aerosol concentration measurements. *Atmos. Chem. Phys.* 14, 1277–1297. <https://doi.org/10.5194/acp-14-1277-2014>.
- Hamilton, J.F., Webb, P.J., Lewis, A.C., Reviejo, M.M., 2005. Quantifying small molecules in secondary organic aerosol formed during the photo-oxidation of toluene with hydroxyl radicals. *Atmos. Environ.* 39, 7263–7275. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2005.09.006>.
- He, L., Chen, H., Rangognio, J., Yahyaoui, A., Colin, P., Wang, J., Daële, V., Mellouki, A., 2018. Fine particles at a background site in Central France: chemical compositions, seasonal variations and pollution events. *Sci. Total Environ.* 612, 1159–1170. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.273>.
- Hennigan, C.J., Miracolo, M.A., Engelhart, G.J., May, A.A., Presto, A.A., Lee, T., Sullivan, A.P., McMeeking, G.R., Coe, H., Wold, C.E., Hao, W.-M., Gilman, J.B., Kuster, W.C., de Gouw, J., Schichtel, B.A., Collett Jr., J.L., Kreidenweis, S.M., Robinson, A.L., 2011. Chemical and physical transformations of organic aerosol from the photo-oxidation of open biomass burning emissions in an environmental chamber. *Atmos. Chem. Phys.* 11, 7669–7686. <https://doi.org/10.5194/acp-11-7669-2011>.
- Hennigan, C.J., Sullivan, A.P., Collett, J.L., Robinson, A.L., 2010. Levoglucosan stability in biomass burning particles exposed to hydroxyl radicals. *Geophys. Res. Lett.* 37, Heo, J., Dulger, M., Olson, M.R., McGinnis, J.E., Shelton, B.R., Matsunaga, A., Stoutas, C., Schauer, J.J., 2013. Source apportionments of PM_{2.5} organic carbon using molecular marker Positive Matrix Factorization and comparison of results from different receptor models. *Atmos. Environ.* 73, 51–61. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.03.004>.
- Herich, H., Gianini, M.F.D., Piot, C., Močnik, G., Jaffrezo, J.-L., Besombes, J.-L., Prévôt, A.S.H., Hueglin, C., 2014. Overview of the impact of wood burning emissions on atmospheric aerosols and (PM) in large parts of the Alpine region. *Atmos. Environ.* <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.02.008>.
- Hu, Q.-H., Xie, Z.-Q., Wang, X.-M., Kang, H., Zhang, P., 2013. Levoglucosan indicates high levels of biomass burning aerosols over oceans from the Arctic to Antarctic. *Sci. Rep.* 3.
- Hueglin, C., Gehrig, R., Baltensperger, U., Gysel, Martin, Monn, C., Vonmont, H., 2005. Chemical characterisation of PM_{2.5}, PM₁₀ and coarse particles at urban, near-city and rural sites in Switzerland. *Atmos. Environ.* 39, 637–651. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2004.10.027>.
- Hwang, I., Hopke, P.K., 2007. Estimation of source apportionment and potential source locations of PM_{2.5} at a west coastal IMPROVE site. *Atmos. Environ.* 41, 506–518. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2006.08.043>.
- Ion, A.C., Vermeylen, R., Kourtchev, I., Cafmeyer, J., Chi, X., Gelencsér, A., Maenhaut, W., Claeys, M., 2005. Polar organic compounds in rural PM_{2.5} aerosols from K-puszta, Hungary, during a 2003 summer field campaign: sources and diel variations. *Atmos. Chem. Phys.* 5, 1805–1814. <https://doi.org/10.5194/acp-5-1805-2005>.
- Jaffrezo, J., Calas, N., Bouchet, M., 1998. Carboxylic acids measurements with ionic chromatography. *Atmos. Environ.* 32, 2705–2708.
- Jaffrezo, J.-L., Aymoz, G., Delaval, C., Cozic, J., 2005. Seasonal variations of the water soluble organic carbon mass fraction of aerosol in two valleys of the French Alps. *Atmos. Chem. Phys.* 5, 2809–2821.
- Jaffrezo, J.-L., Davidson, C.I., Legrand, M., Dibb, J.E., 1994. Sulfate and MSA in the air and snow on the Greenland ice sheet. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 99, 1241–1253. <https://doi.org/10.1029/93JD02913>.
- Jardine, K., Yañez-Serrano, A.M., Williams, J., Kunert, N., Jardine, A., Taylor, T., Abrell, L., Artaxo, P., Guenther, A., Hewitt, C.N., House, E., Florentino, A.P., Manzi, A., Higuchi, N., Kesselmeier, J., Behrendt, T., Veres, P.R., Derstroff, B., Fuentes, J.D., Martin, S.T., Andreae, M.O., 2015. Dimethyl sulfide in the Amazon rain forest. *Global Biogeochem. Cycles* 29, 2014GB004969. <https://doi.org/10.1002/2014GB004969>.
- Jeong, C.-H., McGuire, M.L., Godri, K.J., Slowik, J.G., Rehbein, P.J.G., Evans, G.J., 2011. Quantification of aerosol chemical composition using continuous single particle measurements. *Atmos. Chem. Phys.* 11, 7027–7044. <https://doi.org/10.5194/acp-11-7027-2011>.
- Jia, Y., Bhat, S., Fraser, M.P., 2010a. Characterization of saccharides and other organic compounds in fine particles and the use of saccharides to track primary biologically derived carbon sources. *Atmos. Environ.* 44, 724–732. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2009.10.034>.
- Jia, Y., Clements, A.L., Fraser, M.P., 2010b. Saccharide composition in atmospheric particulate matter in the southwest US and estimates of source contributions. *J. Aerosol Sci.* 41, 62–73. Special Issue for the 9th International Conference on Carbonaceous Particles in the Atmosphere. <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2009.08.005>.
- Jones, Alan M., Harrison, Roy M., 2004. The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations—a review. *Sci. Total Environ.*
- Kawamura, K., Bikkina, S., 2016. A review of dicarboxylic acids and related compounds in atmospheric aerosols: molecular distributions, sources and transformation. *Atmos. Res.* 170, 140–160. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2015.11.018>.
- Kawamura, K., Kobayashi, M., Tsubonuma, N., Mochida, M., Watanabe, T., Lee, M., 2004. Organic and inorganic compositions of marine aerosols from East Asia: seasonal variations of water-soluble dicarboxylic acids, major ions, total carbon and nitrogen, and stable C and N isotopic composition. In: Hill, Ronald J., Aizenshtat, J.L., Zeev, Baedecker, Mary Jo, Claypool, George, Eganhouse, Robert, Goldhaber, Martin, Peters, Kenneth (Eds.), *The Geochemical Society Special Publications*. Elsevier, pp. 243–265.
- Kerminen, V.-M., Ojanen, C., Pakkanen, T., Hillamo, R., Aurela, M., Meriläinen, J., 2000. LOW-MOLECULAR-WEIGHT DICARBOXYLIC ACIDS IN AN URBAN AND RURAL ATMOSPHERE. *J. Aerosol Sci.* 31, 349–362. [https://doi.org/10.1016/S0021-8502\(99\)00063-4](https://doi.org/10.1016/S0021-8502(99)00063-4).
- Kourtchev, I., Ruuskanen, T., Maenhaut, W., Claeys, M., 2005. Observation of 2-methyltetrols and related photo-oxidation products of isoprene in boreal forest aerosols from Hyttälä, Finland. *Atmos. Chem. Phys.* 5, 2761–2770. <https://doi.org/10.5194/acp-5-2761-2005>.
- Kouvarakis, G., Mihalopoulos, N., 2002. Seasonal variation of dimethylsulfide in the gas phase and of methanesulfonate and non-sea-salt sulfate in the aerosols phase in the Eastern Mediterranean atmosphere. *Atmos. Environ.* 36, 929–938. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(01\)00511-8](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(01)00511-8).
- Kundu, S., Kawamura, K., Andreae, T.W., Hoffer, A., Andreae, M.O., 2010. Molecular distributions of dicarboxylic acids, ketocarboxylic acids and α -dicarbonyls in biomass burning aerosols: implications for photochemical production and degradation in smoke layers. *Atmos. Chem. Phys.* 10, 2209–2225. <https://doi.org/10.5194/acp-10-2209-2010>.
- Laongsri, B., Harrison, R.M., 2013. Atmospheric behaviour of particulate oxalate at UK urban background and rural sites. *Atmos. Environ.* 71, 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.02.015>.
- Li, S.-M., Barrie, L.A., Talbot, R.W., Harriss, R.C., Davidson, C.I., Jaffrezo, J.-L., 1993. Seasonal and geographic variations of methanesulfonic acid in the arctic troposphere. *Atmos. Environ. Part Gen. Top., Arctic air, snow and ice chemistry* 27, 3011–3024. [https://doi.org/10.1016/0960-1686\(93\)90333-T](https://doi.org/10.1016/0960-1686(93)90333-T).
- Liang, L., Engling, G., Du, Z., Cheng, Y., Duan, F., Liu, X., He, K., 2016. Seasonal variations and source estimation of saccharides in atmospheric particulate matter in Beijing, China. *Chemosphere* 150, 365–377. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.002>.
- Liang, L., Engling, G., Du, Z., Duan, F., Cheng, Y., Liu, X., He, K., 2017. Contribution of fungal spores to organic carbon in ambient aerosols in Beijing, China. *Atmospheric Pollut. Res.* 8, 351–358. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2016.10.007>.
- Liang, L., Engling, G., He, K., Du, Z., Cheng, Y., Duan, F., 2013. Evaluation of fungal spore characteristics in Beijing, China, based on molecular tracer measurements. *Environ. Res. Lett.* 8, 014005. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/8/1/014005>.
- Maenhaut, W., Nava, S., Lucarelli, F., Wang, W., Chi, X., Kulmala, M., 2011. Chemical composition, impact from biomass burning, and mass closure for PM_{2.5} and PM₁₀ aerosols at Hyttälä, Finland, in summer 2007. *X-Ray Spectrom.* 40, 168–171. <https://doi.org/10.1002/xrs.1302>.
- Medeiros, P.M., Conte, M.H., Weber, J.C., Simoneit, B.R.T., 2006. Sugars as source indicators of biogenic organic carbon in aerosols collected above the Howland Experimental Forest, Maine. *Atmos. Environ.* 40, 1694–1705. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2005.11.001>.
- Medeiros, P.M., Simoneit, B.R.T., 2008. Source profiles of organic compounds emitted upon combustion of green vegetation from temperate climate forests. *Environ. Sci. Technol.* 42, 8310–8316. <https://doi.org/10.1021/es801533b>.
- Miyazaki, Y., Fu, P.Q., Kawamura, K., Mizoguchi, Y., Yamanoi, K., 2012. Seasonal variations of stable carbon isotopic composition and biogenic tracer compounds of water-soluble organic aerosols in a deciduous forest. *Atmos. Chem. Phys.* 12, 1367–1376. <https://doi.org/10.5194/acp-12-1367-2012>.
- Miyazaki, Y., Kawamura, K., Sawano, M., 2010. Size distributions and chemical characterization of water-soluble organic aerosols over the western North Pacific in summer. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 115, D23210. <https://doi.org/10.1029/2010JD014439>.
- Miyazaki, Y., Sawano, M., Kawamura, K., 2014. Low-molecular-weight hydroxyacids in marine atmospheric aerosol: evidence of a marine microbial origin. *Biogeosciences* 11, 4407–4414. <https://doi.org/10.5194/bg-11-4407-2014>.
- Müller, C., Iinuma, Y., Karstensen, J., van Pinxteren, D., Lehmann, S., Gnauk, T., Herrmann, H., 2009. Seasonal variation of aliphatic amines in marine sub-micrometer particles at the Cape Verde islands. *Atmos. Chem. Phys.* 9, 9587–9597. <https://doi.org/10.5194/acp-9-9587-2009>.
- Nirmalkar, J., Deshmukh, D.K., Deb, M.K., Tsai, Y.L., Sopajaree, K., 2015. Mass loading and episodic variation of molecular markers in PM_{2.5} aerosols over a rural area in eastern central India. *Atmos. Environ.* 117, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.07.003>.
- Nolte, C.G., Schauer, J.J., Cass, G.R., Simoneit, B.R., 2001. Highly polar organic compounds present in wood smoke and in the ambient atmosphere. *Environ. Sci. Technol.* 35, 1912–1919.
- Nozière, B., Kalberer, M., Claeys, M., Allan, J., D’Anna, B., Decesari, S., Finessi, E., Glasius, M., Grgić, I., Hamilton, J.F., Hoffmann, T., Iinuma, Y., Jaoui, M., Kahnt, A., Kampf, C.J., Kourtchev, I., Maenhaut, W., Marsden, N., Saarikoski, S., Schnelle-Kreis, J., Surratt, J.D., Szidat, S., Szmiigielski, R., Wisthaler, A., 2015. The molecular identification of organic compounds in the atmosphere: state of the art and challenges. *Chem. Rev.* 115, 3919–3983. <https://doi.org/10.1021/cr5003485>.
- Panteliadis, P., Hafkenscheid, T., Cary, B., Diapouli, E., Fischer, A., Favez, O., Quincey, P., Viana, M., Hitenberger, R., Vecchi, R., Saraga, D., Sciare, J., Jaffrezo, J.L., John, A., Schwarz, J., Giannoni, M., Novak, J., Karanasiou, A., Fermo, P., Maenhaut, W., 2015. EOC comparison exercise with identical thermal protocols after temperature offset correction: instrument diagnostics by in-depth evaluation of operational parameters. *ATMOSPHERIC Meas. Tech.* 8, 779–792. <https://doi.org/10.5194/amt-8-779-2015>.
- Patel, T.K., Williamson, J.D., 2016. Mannitol in plants, fungi, and plant-fungal interactions. *Trends Plant Sci.* 21, 486–497. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.006>.
- Pay, M.T., Jiménez-Guerrero, P., Baldasano, J.M., 2012. Assessing sensitivity regimes of

- secondary inorganic aerosol formation in Europe with the CALIOPE-EU modeling system. *Atmos. Environ.* 51, 146–164. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.01.027>.
- Pietrogrande, M.C., Bacco, D., Visentin, M., Ferrari, S., Casali, P., 2014. Polar organic marker compounds in atmospheric aerosol in the Po Valley during the Supersito campaigns — Part 2: seasonal variations of sugars. *Atmos. Environ.* 97, 215–225. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.07.056>.
- Pio, C.A., Legrand, M., Alves, C.A., Oliveira, T., Afonso, J., Caseiro, A., Puxbaum, H., Sanchez-Ochoa, A., Gelencsér, A., 2008. Chemical composition of atmospheric aerosols during the 2003 summer intense forest fire period. *Atmos. Environ.* 42, 7530–7543. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.05.032>.
- Piot, C., 2011. Polluants atmosphériques organiques particulières en Rhône-Alpes: caractérisation chimique et sources d'émissions. Université de Grenoble.
- Polissar, A.V., Hopke, P.K., Paatero, P., Kaufmann, Y.J., Hall, D.K., Bodhaine, B.A., Dutton, E.G., Harris, J.M., 1999. The aerosol at Barrow, Alaska: long-term trends and source locations. *Atmos. Environ.* 33, 2441–2458. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(98\)00423-3](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(98)00423-3).
- Putaud, J.-P., Dingenen, R.V., Alastuey, A., Bauer, H., Birmili, W., Cyrys, J., Flentje, H., Fuzzi, S., Gehrig, R., Hansson, H.C., Harrison, R.M., Herrmann, H., Hitenberger, R., Hüglin, C., Jones, A.M., Kasper-Giebl, A., Kiss, G., Kousa, A., Kuhlbusch, T.A.J., Löschau, G., Maenhaut, W., Molnar, A., Moreno, T., Pekkanen, J., Perrino, C., Pitz, M., Puxbaum, H., Querol, X., Rodriguez, S., Salma, I., Schwarz, J., Smolik, J., Schneider, J., Spindler, G., Brink, H. ten, Tursic, J., Viana, M., Wiedensohler, A., Raes, F., 2010. A European aerosol phenomenology – 3: physical and chemical characteristics of particulate matter from 60 rural, urban, and kerbside sites across Europe. *Atmos. Environ.* 44, 1308–1320. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2009.12.011>.
- Putaud, J.-P., Raes, F., Dingenen, R.V., Brüggemann, E., Facchini, M.-C., Decesari, S., Fuzzi, S., Gehrig, R., Hüglin, C., Laj, P., Lorbeer, G., Maenhaut, W., Mihalopoulos, N., Müller, K., Querol, X., Rodriguez, S., Schneider, J., Spindler, G., Brink, H. ten, Tørseth, K., Wiedensohler, A., 2004. A European aerosol phenomenology—2: chemical characteristics of particulate matter at kerbside, urban, rural and background sites in Europe. *Atmos. Environ.* 38, 2579–2595. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2004.01.041>.
- Puxbaum, H., Caseiro, A., Sánchez-Ochoa, A., Kasper-Giebl, A., Claeys, M., Gelencsér, A., Legrand, M., Preunkert, S., Pio, C., 2007. Levoglucosan levels at background sites in Europe for assessing the impact of biomass combustion on the European aerosol background. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 112, D23S05. <https://doi.org/10.1029/2006JD008114>.
- Rinaldi, M., Decesari, S., Carbone, C., Finessi, E., Fuzzi, S., Ceburnis, D., O'Dowd, C.D., Sciare, J., Burrows, J.P., Vrekoussis, M., Ervens, B., Tsigaridis, K., Facchini, M.C., 2011. Evidence of a natural marine source of oxalic acid and a possible link to glyoxal. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 116, D16204. <https://doi.org/10.1029/2011JD015659>.
- Saarikoski, S., Sillanpää, M., Sofiev, M., Timonen, H., Saarnio, K., Teinilä, K., Karppinen, A., Kukkonen, J., Hillamo, R., 2007. Chemical composition of aerosols during a major biomass burning episode over northern Europe in spring 2006: experimental and modelling assessments. *Atmos. Environ.* 41, 3577–3589. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2006.12.053>.
- Schäfer, H., Myronova, N., Boden, R., 2010. Microbial degradation of dimethylsulphide and related C1-sulphur compounds: organisms and pathways controlling fluxes of sulphur in the biosphere. *J. Exp. Bot.* 61, 315–334. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp355>.
- Schmidl, C., Marr, L.L., Caseiro, A., Kotianová, P., Berner, A., Bauer, H., Kasper-Giebl, A., Puxbaum, H., 2008. Chemical characterisation of fine particle emissions from wood stove combustion of common woods growing in mid-European Alpine regions. *Atmos. Environ.* 42, 126–141.
- Seinfeld, J.H., Pandis, S.N., 2006. *Atmospheric Chemistry and Physics*. Wiley.
- Simoneit, B.R.T., 2002. Biomass burning — a review of organic tracers for smoke from incomplete combustion. *Appl. Geochem.* 17, 129–162. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(01\)00061-0](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(01)00061-0).
- Simoneit, B.R.T., Elias, V.O., Kobayashi, M., Kawamura, K., Rushdi, A.I., Medeiros, P.M., Rogge, W.F., Didyk, B.M., 2004. Sugars—dominant water-soluble organic compounds in soils and characterization as tracers in atmospheric particulate matter. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5939–5949.
- Singh, M., Kumar, J., Singh, S., Singh, V.P., Prasad, S.M., 2015. Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: a review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 14, 407–426. <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9372-8>.
- Srivastava, D., Tomaz, S., Favez, O., Lanzafame, G.M., Golly, B., Besombes, J.-L., Alleman, L.Y., Jaffrezo, J.-L., Jacob, V., Perraudin, E., Villenave, E., Albinet, A., 2018. Speciation of organic fraction does matter for source apportionment. Part 1: a one-year campaign in Grenoble (France). *Sci. Total Environ.* 624, 1598–1611. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.135>.
- Stein, A.F., Draxler, R.R., Rolph, G.D., Stunder, B.J.B., Cohen, M.D., Ngan, F., 2015. NOAA's HYSPLIT atmospheric transport and dispersion modeling system. *Bull. Am. Meteorol. Soc.* 96, 2059–2077. <https://doi.org/10.1175/BAMS-D-14-00110.1>.
- Steinbrecher, R., Smiatek, G., Köble, R., Seufert, G., Theloke, J., Hauff, K., Ciccioli, P., Vautour, R., Curci, G., 2009. Intra- and inter-annual variability of VOC emissions from natural and semi-natural vegetation in Europe and neighbouring countries. *Atmos. Environ.* 43, 1380–1391. Natural and Biogenic Emissions of Environmentally Relevant Atmospheric Trace Constituents in Europe. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.09.072>.
- Tedersoo, Leho, Suvi, Triin, Larsson, Ellen, Kõljalg, Urmas, 2006. Diversity and community structure of ectomycorrhizal fungi in a wooded meadow. *Mycol. Res.*
- Tsigaridis, K., Kanakidou, M., 2003. Global modelling of secondary organic aerosol in the troposphere: a sensitivity analysis. *Atmos. Chem. Phys.* 3, 1849–1869. <https://doi.org/10.5194/acp-3-1849-2003>.
- Urban, R.C., Alves, C.A., Allen, A.G., Cardoso, A.A., Campos, M.L.A.M., 2016. Organic aerosols in a Brazilian agro-industrial area: speciation and impact of biomass burning. *Atmos. Res.* 169 (Part A), 271–279. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2015.10.008>.
- Urban, R.C., Alves, C.A., Allen, A.G., Cardoso, A.A., Queiroz, M.E.C., Campos, M.L.A.M., 2014. Sugar markers in aerosol particles from an agro-industrial region in Brazil. *Atmos. Environ.* 90, 106–112. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.03.034>.
- Véléz, H., Glassbrook, N.J., Daub, M.E., 2007. Mannitol metabolism in the phytopathogenic fungus *Alternaria alternata*. *Fungal Genet. Biol.* 44, 258–268. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2006.09.008>.
- Verma, S.K., Kawamura, K., Chen, J., Fu, P., 2018. Thirteen years of observations on primary sugars and sugar alcohols over remote Chichijima Island in the western North Pacific. *Atmos. Chem. Phys.* 18, 81–101. <https://doi.org/10.5194/acp-18-81-2018>.
- Waked, A., Favez, O., Alleman, L.Y., Piot, C., Petit, J.-E., Delaunay, T., Verlinden, E., Golly, B., Besombes, J.-L., Jaffrezo, J.-L., Leoz-Garziandia, E., 2014. Source apportionment of PM10 in a north-western Europe regional urban background site (Lens, France) using positive matrix factorization and including primary biogenic emissions. *Atmos. Chem. Phys.* 14, 3325–3346. <https://doi.org/10.5194/acp-14-3325-2014>.
- Waked, Antoine, Piot, C., Besombes, J.-L., Jaffrezo, J.-L., 2014. CAMERA « Caractérisation chimique des PM2.5 sur deux sites du réseau MERA: Revin et Peyrusse-Vieille » (Rapport final ADEME).
- Wéry, N., Galès, A., Brunet, Y., 2017. Bioaerosol sources. In: Delort, A.-M., Amato, P. (Eds.), *Microbiology of Aerosols*. John Wiley & Sons, Inc., pp. 115–135. <https://doi.org/10.1002/9781119132318.ch2a>.
- Womilou, T.O., Miller, J.D., Mayer, P.M., Brook, J.R., 2003. Methods to determine the biological composition of particulate matter collected from outdoor air. *Atmos. Environ.* 37, 4335–4344. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(03\)00577-6](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(03)00577-6).
- Yttri, K.E., Aas, W., Bjerke, A., Cape, J.N., Cavalli, F., Ceburnis, D., Dye, C., Emblico, L., Facchini, M.C., Forster, C., Hanssen, J.E., Hansson, H.C., Jennings, S.G., Maenhaut, W., Putaud, J.P., Tørseth, K., 2007a. Elemental and organic carbon in PM10: a one year measurement campaign within the European Monitoring and Evaluation Programme EMEP. *Atmos. Chem. Phys.* 7, 5711–5725. <https://doi.org/10.5194/acp-7-5711-2007>.
- Yttri, K.E., Dye, C., Kiss, G., 2007b. Ambient aerosol concentrations of sugars and sugar-alcohols at four different sites in Norway. *Atmos. Chem. Phys.* 7, 4267–4279.
- Yttri, K.E., Simpson, D., Nøjgaard, J.K., Kristensen, K., Genberg, J., Stenström, K., Swietlicki, E., Hillamo, R., Aurela, M., Bauer, H., Offenberg, J.H., Jaoui, M., Dye, C., Eckhardt, S., Burkhardt, J.F., Stohl, A., Glasius, M., 2011a. Source apportionment of the summer time carbonaceous aerosol at Nordic rural background sites. *Atmos. Chem. Phys.* 11, 13339–13357. <https://doi.org/10.5194/acp-11-13339-2011>.
- Yttri, K.E., Simpson, D., Stenström, K., Puxbaum, H., Svendby, T., 2011b. Source apportionment of the carbonaceous aerosol in Norway – quantitative estimates based on 14C, thermal-optical and organic tracer analysis. *Atmos. Chem. Phys.* 11, 9375–9394. <https://doi.org/10.5194/acp-11-9375-2011>.
- Zanatta, M., Gysel, M., Bukowiecki, N., Müller, T., Weingartner, E., Areskou, H., Fiebig, M., Yttri, K.E., Mihalopoulos, N., Kouvarakis, G., Beddows, D., Harrison, R.M., Cavalli, F., Putaud, J.P., Spindler, G., Wiedensohler, A., Alastuey, A., Pandolfi, M., Sellegri, K., Swietlicki, E., Jaffrezo, J.-L., Baltensperger, U., Laj, P., 2016. A European aerosol phenomenology-5: climatology of black carbon optical properties at 9 regional background sites across Europe. *Atmos. Environ.* 145, 346–364. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.09.035>.
- Zangrando, R., Barbaro, E., Kirchgorg, T., Vecchiato, M., Scalabrin, E., Radaelli, M., Dordević, D., Barbante, C., Gambaro, A., 2016. Five primary sources of organic aerosols in the urban atmosphere of Belgrade (Serbia). *Sci. Total Environ.* <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.188>.
- Zhang, T., Engling, G., Chan, C.-Y., Zhang, Y.-N., Zhang, Z.-S., Lin, M., Sang, X.-F., Li, Y.D., Li, Y.-S., 2010. Contribution of fungal spores to particulate matter in a tropical rainforest. *Environ. Res. Lett.* 5, 024010. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/5/2/024010>.
- Zhu, C., Kawamura, K., Kunwar, B., 2015. Organic tracers of primary biological aerosol particles at subtropical Okinawa Island in the western North Pacific Rim. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 120, 5504–5523. <https://doi.org/10.1002/2015JD023611>.
- Zhu, W., Cheng, Z., Luo, L., Lou, S., Ma, Y., Yan, N., 2018. Investigation of fungal spore characteristics in PM2.5 through organic tracers in Shanghai, China. *Atmospheric Pollut. Res.* 9, 894–900. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2018.01.009>.

Supplementary information: <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.10.027>

Table S 1: Measured concentrations (mean (min-max)) for all the sampling sites averaged from January through December, 2013.

	Sampling sites				
	Verneuil	Dieulefit	Andra-OPE	Revin	Peyrusse-Vielle
	n=60	n=56	n=58	n=67	n=56
PM_{2.5}, calc	12.3 (1.35-43.6)	9.88 (1.51 - 44.1)	12.9 (2.43-39.0)	11.6 (1.74-54.6)	6.38 (0.12-26.3)
Carbonaceous matter [$\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$]					
OC	2.35 (0.40-9.26)	2.51 (0.32 - 9.74)	2.26 (0.17-6.52)	2.14 (0.22-5.99)	1.69 (0.24-7.29)
EC	0.28 (0.04-0.78)	0.31 (0.04 - 1.52)	0.29 (0.05-0.75)	0.31 (0.05-1.02)	0.20 (0.02-0.88)
Ionic species [$\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$]					
Sulfate	1.61 (0.25-7.91)	1.78 (0.13-9.12)	1.98 (0.07-8.82)	2.47 (0.26-10.6)	1.32 (0.03-6.43)
Nitrate	2.15 (0.02-17.0)	1.71 (0.02-19.9)	2.08 (0.04-10.1)	2.57 (0.04-22.9)	0.74 (0.006-10.1)
Ammonium	1.19 (0.02-8.98)	1.12 (0.04-7.84)	1.22 (0.03-6.10)	1.58 (0.04-10.5)	0.68 (0.02-4.55)
Calcium	0.22 (0.12-0.36)	0.05 (0.01-0.22)	0.17 (0.01-1.34)	0.05 (0.01-0.30)	0.05 (0.01-0.22)
Potassium	0.06 (0.01-0.23)	0.09 (0.01-1.37)	0.07 (0.004-0.23)	0.08 (0.01-0.58)	0.06 (0.005-0.66)
Sodium	0.10 (0.01-0.69)	0.05 (0.01-0.21)	0.12 (0.004-0.55)	0.12 (0.005-0.74)	0.07 (0.003-0.28)
Others ions	0.07 (0.001-0.79)	0.02 (0.001-0.11)	0.07 (0.004-0.36)	0.09 (0.005-0.69)	0.04 (0.001-0.49)
Organic species [$\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$]					
Oxalate	87.8 (0.92-264)	95.5 (2.39-283)	82.6 (1.97-332)	71.0 (1.03-219)	61.7 (0.91-227)
MSA	36.6 (1.94-355)	23.4 (1.08-126)	32.7 (0.37-235)	37.0 (1.47-419)	31.8 (1.24-186)
Arabitol	2.81 (0.46-8.85)	4.79 (0.80-37.0)	10.23 (0.47-77.8)	3.39 (0.50-22.2)	3.22 (0.26-35.0)
Sorbitol	0.36 (0.01-1.91)	1.18 (0.02-18.1)	0.36 (0.004-1.81)	0.44 (0.004-3.99)	0.92 (0.005-10.8)
Mannitol	2.49 (0.36-9.5)	3.78 (0.34-16.3)	10.1 (0.39-77.6)	3.50 (0.01-35.1)	1.53 (0.12-15.6)
Levoglucozan	199 (3.65-967)	106 (3.26-576)	89.8 (1.63-479)	92.8 (1.77-399)	122 (2.17-1372)
Mannosan	13.2 (0.34-71.1)	8.67 (0.41-57.9)	8.73 (0.08-45.5)	9.46 (0.09-51.7)	9.63 (0.13-130)
Galactosan	7.31 (0.08-36.2)	4.31 (0.20-27.8)	3.81 (0.38-16.7)	4.36 (0.20-25.4)	4.37 (0.29-53.2)
Glucose	5.80 (1.24-34.0)	8.89 (2.79-53.5)	13.7 (0.90-113)	6.52 (0.28-53.7)	8.55 (0.64-94.1)

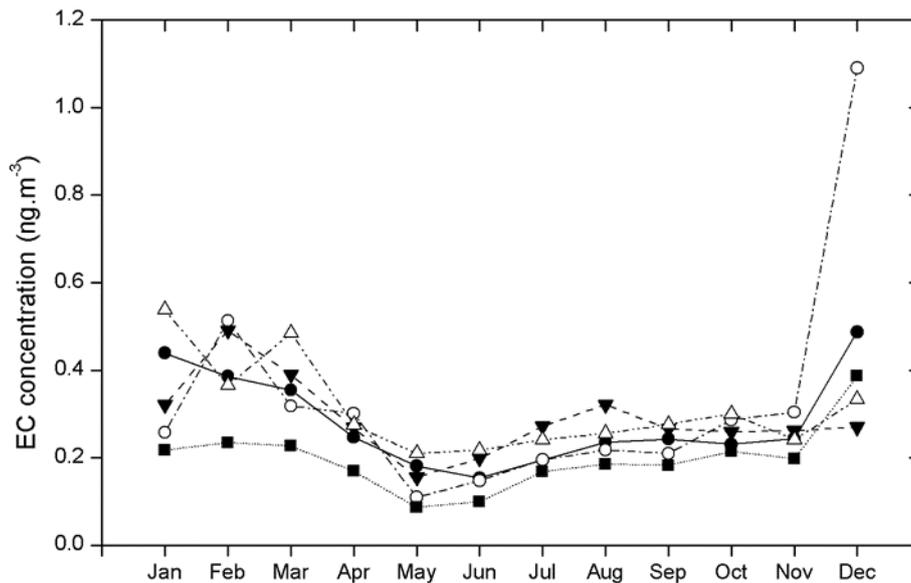


Figure S 1: Monthly average variation of EC ($\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$) at the 5 rural background sites.

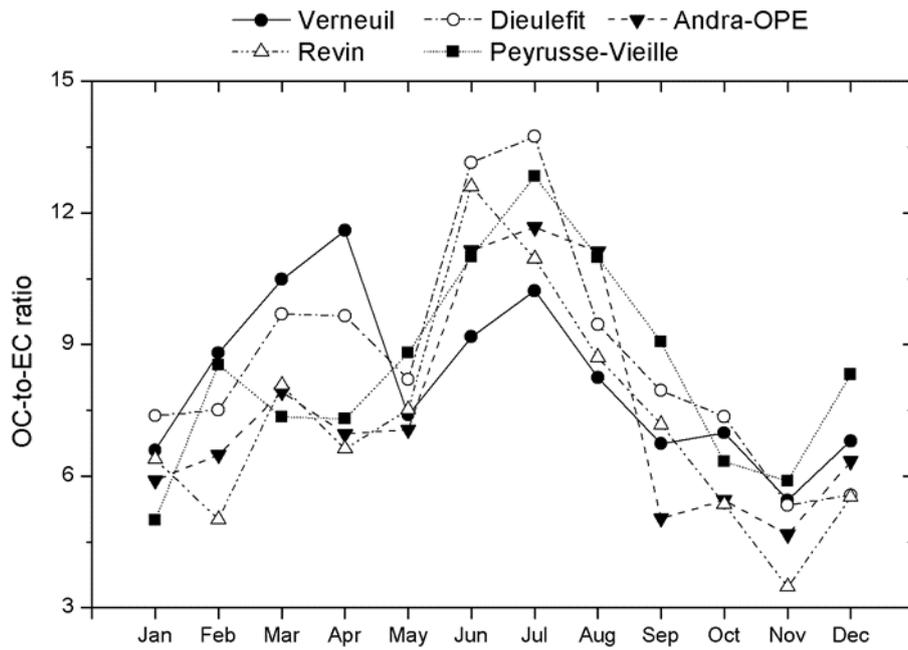


Figure S 2: Monthly average variation of OC-to-EC ratio at the 5 rural background sites.

Figure S 1 illustrates that maximum values for EC are mainly observed during the winter season from December through February. Furthermore, the ratio of OC/EC showed also maximum values during the winter season identical to the seasonal variation of EC where the contribution of EC to total carbon ($TC = OC + EC$) can reach an average value of 24% (Figure S 2). During the summer season, EC contribution to total TC is too low and can reach an average value of only 7%. Therefore, EC which is a marker of primary sources, its monthly variation as well as its contribution to total TC in both the winter and the summer seasons suggests that the main sources during winter are local primary combustion sources.

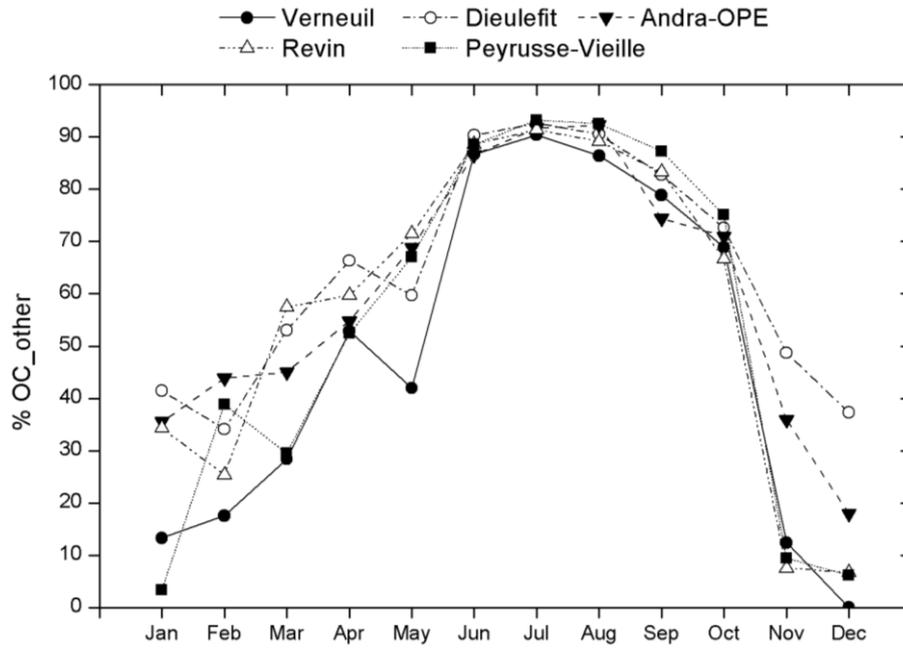


Figure S 3: Monthly average variation (%) of un-apportioned OC fraction calculated by mono-tracer approach at the 5 rural background sites.

In summertime, the un-apportionment of OC mass in PM_{2.5} by mono-tracer approach represents about 80-90% of measured OC and which can commonly be attributed to secondary organic carbon (SOC) or potential other emission sources such as biogenic sources discussed in detail in the section 3.2.3.

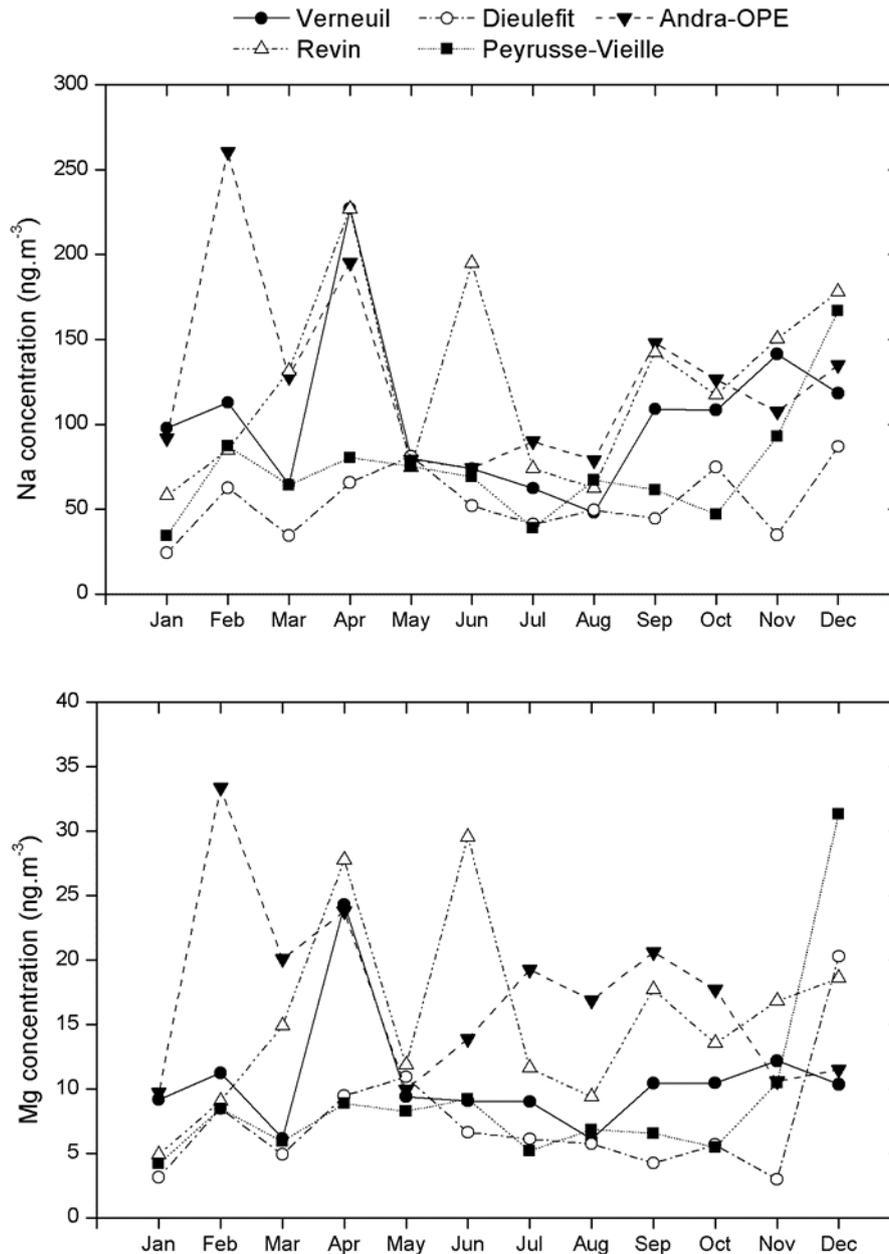


Figure S 4: Monthly average variation (ng.m⁻³) of Sodium and Magnesium at the 5 rural background sites.

During, the period of high concentration of MSA (especially in summer), the typical fresh sea salt ratios have been investigated such as Cl/Na and Mg/Na typical reported in the literature (Seinfeld and Pandis, 2006). The calculated ratios were lower than those found in fresh sea salt (Cl/Na = 1.78). These average ratios ranged from 0.05 to 0.35 during this period which could be related to a negligible share of chlorine in fine particulate matter. The results show that the air mass aerosol consisted of aged aerosol according to the typology of these sites (rural background sites). For the ratios of Mg/Na (ranging from 0.13 to 0.16), they agreed with the ratio of 0.12 expected for fresh sea salt, particularly for the sites of Revin and Verneuil. Higher ratio was observed for the site of Andra-OPE with Mg/Na ranged 0.29. This observation confirms the specificities of the Andra-OPE site in relation to the primary

and secondary biogenic emissions (cf. 3.2.3) and the geographical origin of MSA emission source from the NE sectors.

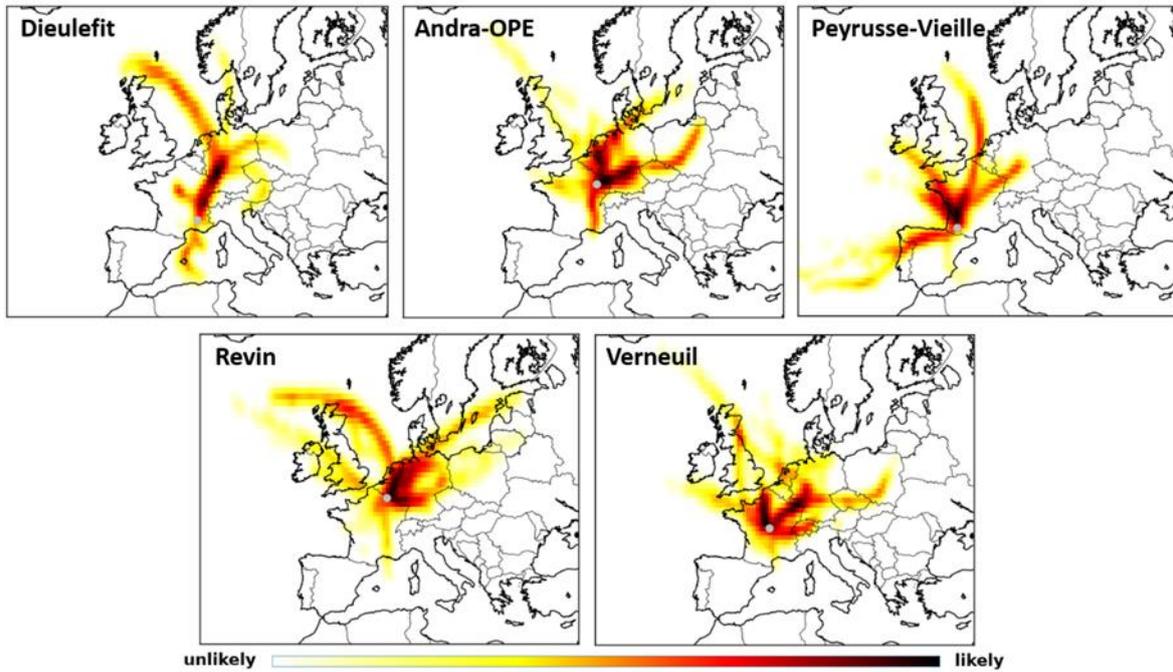


Figure S 5: PSCF probability of geographical origins of Levoglucosan emission sources for each site.

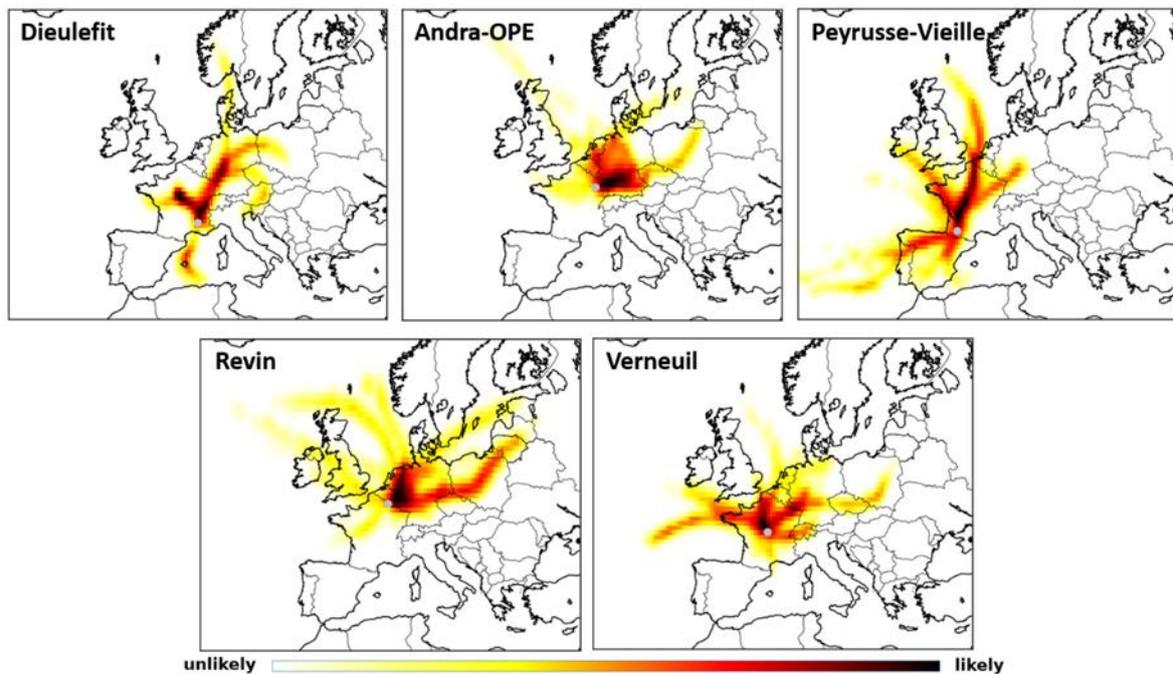


Figure S 6: PSCF probability of geographical origins of EC emission sources for each site.

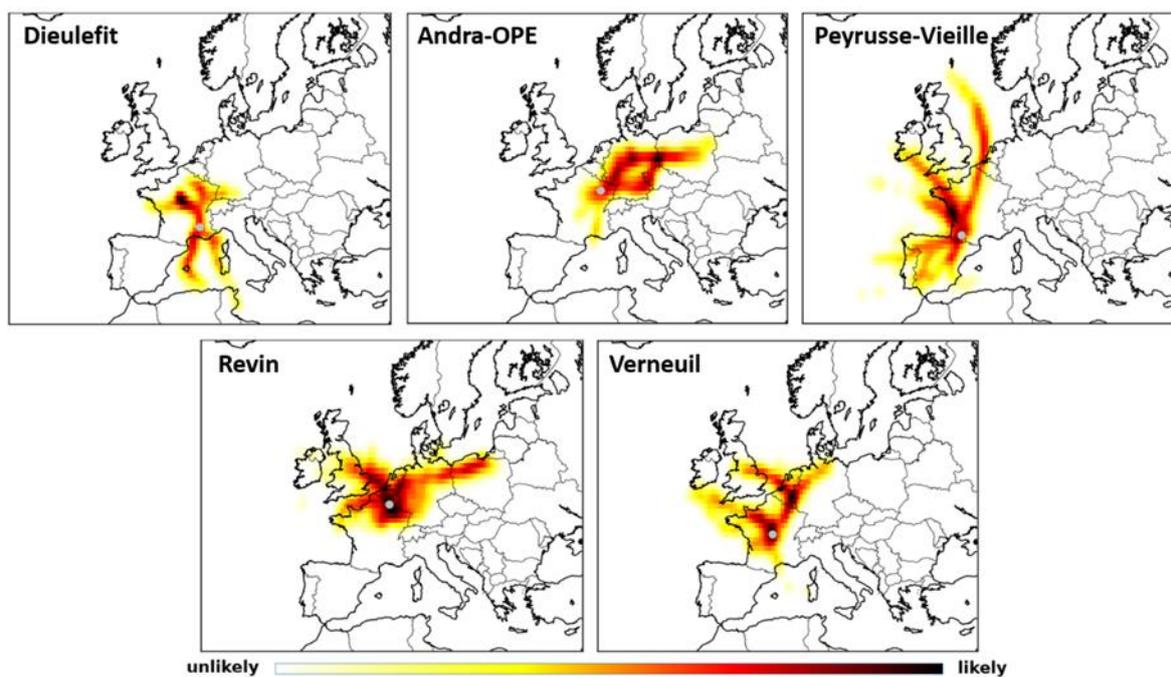


Figure S 7: PSCF probability of geographical origins of Polyols emission sources for each site.

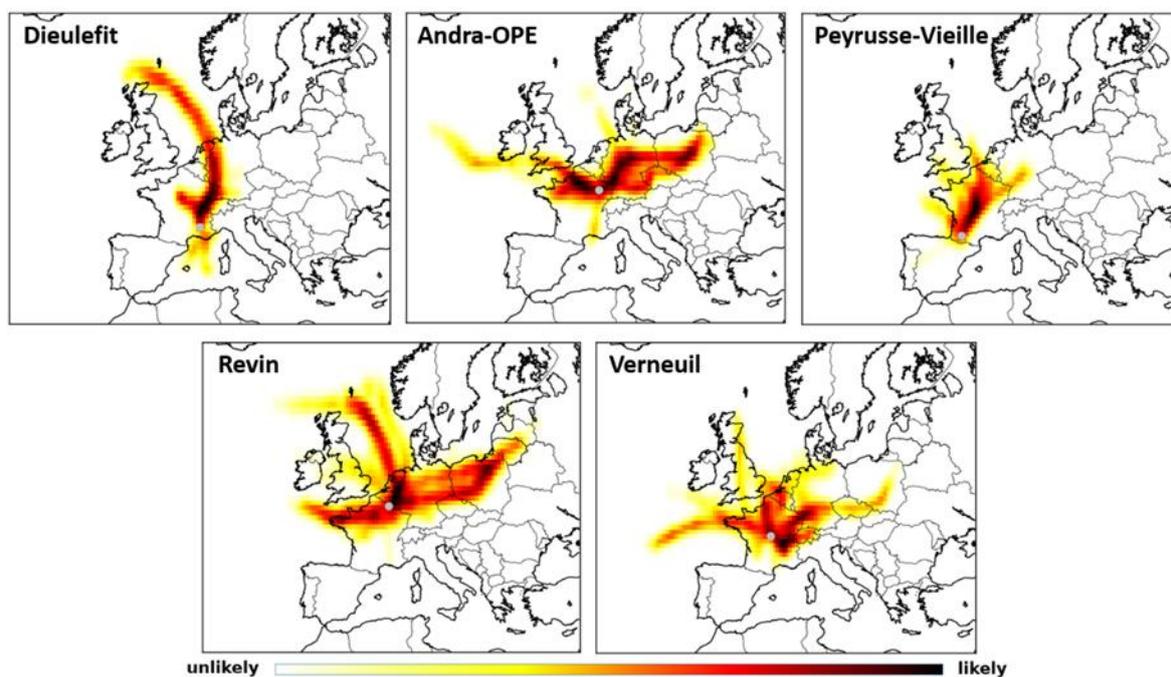


Figure S 8: PSCF probability of geographical origins of Oxalate emission sources for each site.

Conclusion et perspectives du chapitre 3

Ce troisième chapitre de thèse présente l'évolution mensuelle moyenne de la concentration atmosphérique de différents marqueurs moléculaires de sources d'aérosols carbonés sur cinq sites de fonds ruraux en France. Seules les conclusions majeures relatives aux aérosols organiques d'origine biogénique primaire, qui font l'objet principal de ce travail de thèse, sont décrites ci-dessous :

- En utilisant une approche monotracteur simple, ce chapitre fournit une première estimation robuste permettant d'estimer les ordres de grandeurs des contributions de plusieurs sources de matières carbonées particulières. En période hivernale, l'OC est largement dominé par les contributions de la combustion de la biomasse alors que les PBOAs constituent une fraction importante en période estivale, représentant environ 4.5 à 9.5% de la masse de l'OC dans la fraction PM_{2.5} en moyenne sur des sites de fonds ruraux. Cela illustre un changement de nature de cette composante carbonée de l'aérosol au cours de l'année. Pour affiner ces premières estimations, une approche statistique multi-traceurs et intégrative de l'ensemble de toutes les sources influençant la masse de l'aérosol sur un site récepteur est nécessaire.
- L'analyse des rétrotrajectoires du vent par PSCF suggère que les fortes concentrations des traceurs moléculaires associés PBOAs sont principalement d'origine continentale.
- Il existe une grande variabilité entre les évolutions mensuelles de la concentration moyenne des marqueurs moléculaires sur les cinq sites de fonds ruraux. Cette désynchronisation des concentrations observées au cours du temps pourrait indiquer des processus d'émissions qui peuvent, en première approche, être plutôt dépendants et/ou actifs à des échelles régionales ou locales.
- Enfin, l'analyse simultanée de la concentration atmosphérique moyenne mensuelle des polyols majoritaires et les activités agricoles sur le site de l'OPE-ANDRA fournit une première indication sur les processus potentiels d'émissions de ces espèces sur un site rural dans une zone de grandes cultures.

Chapitre 4 : Les sucres primaires comme traceurs d'aérosols organiques biogéniques primaires sur 28 sites français : influence des facteurs environnementaux sur leurs dynamiques temporelles et spatiales en France 117

Préambule..... 118

Article 2: Polyols and glucose particulate species as tracers of primary biogenic organic aerosols at 28 French sites..... 120

Supplementary information:..... 139

Description of the Positive Matrix Factorization (PMF) analyses 142

Article 3: Arabitol, mannitol, and glucose as tracers of primary biogenic organic aerosol: the influence of environmental factors on ambient air concentrations and spatial distribution over France. 149

Préambule..... 150

Supplementary information..... 169

1 Section 1: supplementary illustrations 169

2 Section 2: Analysis of ambient particulate cellulose concentration 176

Chapitre 4 : Les sucres primaires comme traceurs d'aérosols organiques biogéniques primaires sur 28 sites français : influence des facteurs environnementaux sur leurs dynamiques temporelles et spatiales en France

Préambule

Comme déjà évoqué dans les précédents chapitres, la complexité de la matière organique particulaire (MO) demeure mal appréhendée et incomprise dans sa globalité. Pour rappel, les meilleures caractérisations chimiques de la MO ne permettent au mieux l'identification moléculaire que d'environ 20 % de la masse de cette MO. En particulier, les différentes sources dont sont issus ces composants organiques sont mal identifiées. L'hypothèse généralement admise par la communauté de (géo)chimie atmosphérique est que la majeure partie de cette fraction inconnue de la MO serait d'origine secondaire ou anthropique. Une question non résolue reste cependant la quantification des contributions massiques totales des sources biogéniques primaires à la masse de MO, qui demeurent très peu documentées à ce jour.

Toutefois, nous avons pu voir dans le Chapitre 3 que les PBOAs peuvent constituer une fraction importante et significative des particules fines atmosphériques (PM_{2.5}). Ce premier travail repose cependant sur une approche « simplifiée » de monotracteur sur des sites nationaux de fonds ruraux. Dans le même ordre d'idée, l'analyse de la littérature (Chapitre 1) nous a également montré que l'information sur la contribution massique totale des PBOAs à la MO demeure aujourd'hui encore incomplète et que les rares estimations existantes à ce sujet sont hautement incertaines (Bozzetti et al., 2016; Coz et al., 2010; Tanarhte et al., 2019).

Si l'étude présentée dans le Chapitre 3 apporte un nouveau regard sur l'importance de la contribution massique de la fraction biogénique primaire à la MO sur des sites nationaux de fonds ruraux, elle a cependant été réalisée sur la fraction PM_{2.5}. Or, au regard du spectre de tailles des particules biologiques atmosphériques, qui sont généralement localisées dans la fraction grossière des PM (ceci est décrit dans le chapitre 1), on peut à juste titre imaginer que les PBOAs soient plutôt majoritaires dans les PM₁₀. Dans ce contexte, il apparaît judicieux de s'attacher à affiner la caractérisation des PBOAs dans la fraction grossière PM₁₀.

La première partie de ce quatrième chapitre s'inscrit dans cette optique, avec pour principal objectif de progresser dans la compréhension des variations saisonnières et spatiales des concentrations des sucres primaires particulaires et d'apporter une meilleure caractérisation des contributions massiques de sources biogéniques primaires à la MO. L'utilisation de l'approche statistique *Positive Matrix Factorization* (PMF) homogène permet sur ce point d'aller plus loin que l'approche monotracteur (se focalisant sur une source unique d'émission), en affinant à la fois l'identification et la quantification des principales sources de particules dans l'air ambiant. Comme déjà évoqué dans le Chapitre 2, un précédent travail dans le cadre des projets [SOURCE](#) et [DECOMBIO](#) (Chevrier, 2017; Favez et al., 2016; Weber et al., 2019) avait appliqué une méthodologie de traitement de données de type PMF harmonisée pour une analyse homogène des sources de PM₁₀ sur seize sites d'études en France. Ces sites d'études ont été sélectionnés de façon à ce qu'ils recouvrent plusieurs régions géographiques et conditions climatiques typiques en France. Ainsi, les jeux de données acquises durant ces deux projets serviront de point d'appui essentiel pour fournir de meilleures estimations des PBOAs dans les PM₁₀.

Pour cette étude, nous avons le choix d'une stratégie générale multi-sites, qui s'avère essentielle pour progresser dans la compréhension des processus dominants d'émissions des sucres primaires particuliers vers l'atmosphère ainsi que pour déceler les paramètres environnementaux qui contrôlent les variabilités temporelles des niveaux de concentrations atmosphériques des sucres primaires (et PBOAs). Ainsi, après l'étude de la distribution des sucres primaires entre les fractions réglementaires de PM (i.e., PM_{2.5} et PM₁₀), la première partie de ce chapitre tentera de décrire leurs variations temporelles (cycles saisonniers et annuels) sur 28 sites d'études répartis dans plusieurs régions géographiques et représentatifs de plusieurs conditions climatiques typiques en France. Elle s'attachera également à établir une empreinte chimique robuste associée aux PBOAs et à évaluer l'évolution saisonnière de leur contribution massique à la MO dans les PM₁₀ en France pour une année civile complète. Sur ce point, la stratégie générale multi-sites adoptée permet également d'avoir une vision complète sur les variabilités spatiales associées aux PBOAs pour plusieurs typologies et conditions (géo)climatiques de sites d'étude.

Les travaux présentés dans cette première partie Chapitre 4 sont basés sur un article publié dans le journal « *Atmospheric Chemistry and Physics (ACP)* DOI : [10.5194/acp-19-3357-2019](https://doi.org/10.5194/acp-19-3357-2019) ».

L'ensemble des résultats présenté dans ce Chapitre 4 apportent un nouveau regard sur l'importance de la contribution massique des PBOAs et des nouvelles connaissances sur les processus dominants par lesquels ils sont introduits ainsi que les facteurs environnementaux qui déterminent ces processus. Ces résultats pourraient constituer un point d'appui essentiel pour une meilleure paramétrisation des PBOAs dans les modèles de chimie-transport.

Article 2: Polyols and glucose particulate species as tracers of primary biogenic organic aerosols at 28 French sites

Atmos. Chem. Phys., 19, 3357-3374, 2019, <https://doi.org/10.5194/acp-19-3357-2019>

Atmos. Chem. Phys., 19, 3357–3374, 2019
 https://doi.org/10.5194/acp-19-3357-2019
 © Author(s) 2019. This work is distributed under
 the Creative Commons Attribution 4.0 License.



Atmospheric
 Chemistry
 and Physics
 Open Access

Polyols and glucose particulate species as tracers of primary biogenic organic aerosols at 28 French sites

Abdoulaye Samaké¹, Jean-Luc Jaffrezo¹, Olivier Favez², Samuël Weber¹, Véronique Jacob¹, Alexandre Albinet², Véronique Riffault³, Esperanza Perdrix³, Antoine Waked¹, Benjamin Golly¹, Dalia Salameh^{1,a}, Florie Chevrier¹, Diogo Miguel Oliveira^{2,3}, Nicolas Bonnaire⁴, Jean-Luc Besombes⁵, Jean M. F. Martins¹, Sébastien Conil⁶, Géraldine Guillaud⁷, Boualem Meshah⁸, Benoit Rocq⁹, Pierre-Yves Robic¹⁰, Agnès Hulin¹¹, Sébastien Le Meur¹², Maxence Descheemaeker¹³, Eve Chretien¹⁴, Nicolas Marchand¹⁵, and Gaëlle Uzu¹

¹University Grenoble Alpes, CNRS, IRD, INP-G, IGE (UMR 5001), 38000 Grenoble, France

²INERIS, Parc Technologique Alata, BP 2, 60550 Verneuil-en-Halatte, France

³IMT Lille Douai, University Lille, SAGE – Département Sciences de l'Atmosphère et Génie de l'Environnement, 59000 Lille, France

⁴LSCE, UMR CNRS-CEA-UVSQ, 91191 Gif-sur-Yvette, France

⁵University Savoie Mont Blanc, LCME, 73000 Chambéry, France

⁶ANDRA DRD/GES Observatoire Pérenne de l'Environnement, 55290 Bure, France

⁷Atmo Auvergne-Rhône-Alpes, 38400 Grenoble, France

⁸Air PACA, 03040, France

⁹Atmo Hauts-de-France, 59000, France

¹⁰Atmo Occitanie, 31330 Toulouse, France

¹¹Atmo Nouvelle-Aquitaine, 33000, France

¹²Atmo Normandie, 76000, France

¹³Lig'Air, 45590 Saint-Cyr-en-Val, France

¹⁴Atmo Grand Est, 16034 Strasbourg, France

¹⁵Aix-Marseille University, LCE (UMR7376), Marseille, France

^anow at: Airport pollution control authority (ACNUSA), 75007 Paris, France

Correspondence: Abdoulaye Samaké (abdoulaye.samake2@univ-grenoble-alpes.fr) and Jean-Luc Jaffrezo (lean-luc.jaffrezo@univ-grenoble-alpes.fr)

Received: 27 July 2018 – Discussion started: 9 October 2018

Revised: 26 February 2019 – Accepted: 27 February 2019 – Published: 15 March 2019

Abstract. A growing number of studies are using specific primary sugar species, such as sugar alcohols or primary saccharides, as marker compounds to characterize and apportion primary biogenic organic aerosols (PBOAs) in the atmosphere. To better understand their annual cycles, as well as their spatiotemporal abundance in terms of concentrations and sources, we conducted a large study focusing on three major atmospheric primary sugar compounds (i.e., arabitol, mannitol, and glucose) measured in various environmental conditions for about 5300 filter samples collected at 28 sites in France. Our results show significant atmospheric concentrations of polyols (defined here as the sum of arabitol and

mannitol) and glucose at each sampling location, highlighting their ubiquity. Results also confirm that polyols and glucose are mainly associated with the coarse rather than the fine aerosol mode. At nearly all sites, atmospheric concentrations of polyols and glucose display a well-marked seasonal pattern, with maximum concentrations from late spring to early autumn, followed by an abrupt decrease in late autumn, and a minimum concentration during wintertime. Such seasonal patterns support biogenic emissions associated with higher biological metabolic activities (sporulation, growth, etc.) during warmer periods. Results from a previous comprehensive study using positive matrix factorization (PMF)

Published by Copernicus Publications on behalf of the European Geosciences Union.

based on an extended aerosol chemical composition dataset of up to 130 species for 16 of the same sample series have also been used in the present work. The polyols-to-PM_{PBOA} ratio is 0.024 ± 0.010 on average for all sites, with no clear distinction between traffic, urban, or rural typology. Overall, even if the exact origin of the PBOA source is still under investigation, it appears to be an important source of particulate matter (PM), especially during summertime. Results also show that PBOAs are significant sources of total organic matter (OM) in PM₁₀ ($13 \pm 4\%$ on a yearly average, and up to 40% in some environments in summer) at most of the investigated sites. The mean PBOA chemical profile is clearly dominated by contribution from OM ($78 \pm 9\%$ of the mass of the PBOA PMF on average), and only a minor contribution from the dust class ($3 \pm 4\%$), suggesting that ambient polyols are most likely associated with biological particle emissions (e.g., active spore discharge) rather than soil dust resuspension.

1 Introduction

Airborne particles (or particulate matter, PM) are of major concern due to their multiple effects on climate and adverse human health impacts (Boucher et al., 2013; Cho et al., 2005; Ntziachristos et al., 2007). The diversity of PM impacts is closely linked to their complex and highly variable nature, i.e., size distribution, concentration and chemical composition, or specific surface properties. PM consists of inorganic and elemental substances, and a large fraction made of carbonaceous matter (organic carbon, OC, and elemental carbon, EC) (Franke et al., 2017; Putaud et al., 2004a; Yttri et al., 2007a). Substantial amounts of atmospheric organic matter (OM) remain unidentified and uncharacterized at the molecular level. In most studies, a maximum of only 20% of particulate OM mass can generally be speciated and quantified (Alfarra et al., 2007; Fortenberry et al., 2018; Liang et al., 2017; Nozière et al., 2015). This detailed composition of OM and its spatial and seasonal distribution can give important insights into the adverse effects of PM. So far, the majority of air pollution studies have focused on organic atmospheric particles associated with anthropogenic and secondary sources, whereas a significant fraction of OM can also be associated with primary emissions from biogenic sources (Bauer et al., 2008a; Jaenicke, 2005; Liang et al., 2016). Therefore, the characterization of primary OM biogenic sources at the molecular level is still limited (Fuzzi et al., 2006; Liang et al., 2017; Zhu et al., 2015), and should be further investigated for a better understanding of aerosol sources and formation processes.

Primary biogenic organic aerosols (PBOAs) are emitted directly from the biosphere to the atmosphere where they are ubiquitous and participate in many atmospheric processes (Elbert et al., 2007; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016). Addi-

A. Samaké et al.: Polyols and glucose particulate species

tionally, their inhalation has long been associated with human respiratory impairments (asthma, aspergillosis, etc.; Després et al., 2012; Morris et al., 2011). PBOAs comprise living and dead microorganisms, such as bacteria and fungi; viruses; bacterial and fungal spores; microbial fragments, such as endotoxins, mycotoxins; or plant materials, such as vegetative debris and pollens (Elbert et al., 2007; Jaenicke, 2005; Morris et al., 2011). In most semi-urban European sites, PBOA can account for up to 25% of the atmospheric aerosol mass in the size range of 0.2 to 50 μm (Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Jaenicke, 2005; Huffman et al., 2012; Manninen et al., 2014; Morris et al., 2011). However, their sources and contribution to total airborne particles are still poorly documented, partly because of the difficulty to recognize them by conventional microbiological methods (cell culture, microscopic examination, etc.; Di Filippo et al., 2013; Heald and Spracklen, 2009; Jia et al., 2010a).

Several specific chemical components, such as primary sugar compounds (i.e., primary saccharides and sugar alcohols) emitted persistently from biogenic sources, have long been suggested as powerful and unique biomarkers in tracing sources, as well as abundances of PBOA (Bauer et al., 2008a; Medeiros et al., 2006; Simoneit et al., 2004b; Zhang et al., 2010; Zhu et al., 2016). For instance, ambient concentrations of glucose have been used as markers for plant materials (such as pollen, leaves, and their fragments) or soil emissions from several areas in the world (Fu et al., 2012; Jia et al., 2010a, b; Pietrogrande et al., 2014; Rathnayake et al., 2017). Many studies indicated that glucose is the most abundant monosaccharide in vascular plants, where it serves as the common energy material, and an important source of carbon for soil active microorganisms (such as bacteria or fungi) (Jia et al., 2010a; Medeiros et al., 2006; Pietrogrande et al., 2014; Zhu et al., 2015). Additionally, sugar alcohols (also called polyols) including arabitol and mannitol have been proposed as markers for airborne fungi, and are widely used to quantify their contributions to PBOA mass (Bauer et al., 2008a, b; Golly et al., 2018; Srivastava et al., 2018; Zhang et al., 2010). These sugar alcohols have also been found to correlate very well with fluorescent PBOA in the ultraviolet aerodynamic particle sizer (UV-APS) and wide-band integrated bioaerosol sensor (WIBS-3) online studies, particularly in rainy periods (Gosselin et al., 2016), favoring microbial sporulation (such as fungi belonging to Ascomycota and Basidiomycota phyla) (China et al., 2016; Elbert et al., 2007; Jones and Harrison, 2004). Polyols are produced in large amounts by many fungi and bacteria, and several functions have been described for these compounds, such as common energy storage materials, intracellular protectants against stressful conditions (e.g., heat or drought), storage or transport of carbohydrates, quenchers of oxygenated reactive species, or regulators of intracellular pH by acting as a sink or source of protons (Jennings et al., 1998; Medeiros et al., 2006; Véléz et al., 2007). Hence, polyols, especially arabitol and mannitol, may represent a significant fraction

of the dry weight of fungi, and mannitol can contribute between 20 % and 50 % of the mycelium dry weight (Ruijter et al., 2003; Véléz et al., 2007). However, polyols are also often identified in the lower plants (leaves, pollens) and green algal lichens (Medeiros et al., 2006; Véléz et al., 2007; Yang et al., 2012). The primary sugar compounds (defined as polyols and primary saccharide species) are thought to be relatively stable in the atmosphere (Wang et al., 2018), although studies investigating their atmospheric lifetime are quite limited. One previous laboratory study has been conducted by the US Environmental Protection Agency (EPA) to evaluate the stability of these chemicals on filter material exposed to gaseous oxidants as well as in aqueous solutions (simulating clouds and fog droplet chemistry). Findings of that study have shown that primary sugar compounds remain quite stable up to 7 days (the extent of the testing period), pointing out their suitability for use as tracers of atmospheric transport (Fraser, 2010). With all of this information, the use of primary sugar compounds (such as mannitol, arabinol, glucose, etc.) as suitable tracers of PBOA is generally acknowledged (Jia and Fraser, 2011; Zhu et al., 2015, 2016).

Although atmospheric concentrations of polyols – including arabinol and mannitol as well as some primary monosaccharides (e.g., glucose) – have been previously quantified as part of several studies in various environments including urban/suburban, rural, rainforest, mountain, and marine areas (Fu et al., 2012; Graham et al., 2003; Jia et al., 2010a, b; Liang et al., 2016; Pietrogrande et al., 2014; Simoneit, 2004a, b; Verma et al., 2018; Yttri et al., 2007b; Zhu et al., 2015), large datasets investigating their annual cycles and spatial distributions are still limited. Such information could give important insights into environmental factors influencing their atmospheric levels such as climate and biotope, and therefore help to elucidate patterns regarding their major sources and atmospheric emission pathways. Even if numerous sources and emission mechanisms have been widely proposed – including, among others, metabolically active microbial wet emissions, entrainment of farmland or natural soils, and associated microbiota (Elbert et al., 2007; Fu et al., 2013; Gosselin et al., 2016; Jia et al., 2010a, b; Medeiros et al., 2006; Pietrogrande et al., 2014; Simoneit et al., 2004a, b; Verma et al., 2018; Yttri et al., 2007b) – the dominant atmospheric input processes have not yet been sufficiently elucidated.

In this context, the present study was designed to provide a broad overview of the spatial and seasonal variations in polyols and glucose mass concentrations, as well as their contribution to the aerosol organic mass fraction in France. To do so, data were collected at many sites in different environments (rural, traffic, urban) in order to represent various sampling conditions in terms of site typologies and meteorological conditions. Thanks to the availability of results from an extended positive matrix factorization (PMF) analysis performed for the corresponding datasets, the overall contributions of the main polyols and glucose emission sources could

also be investigated in light of their spatial patterns. To the best of our knowledge, this is the first study providing such an extended phenomenology of these compounds over multiple sites with different typologies.

2 Material and methods

2.1 Aerosol sampling

Ambient aerosol samples considered in the present work come from different research and monitoring programs, conducted over the last 5 years in France (Fig. 1). Each program includes at least 1 year of field sampling, providing a total number of 5343 daily filter samples available for the sake of the present study. These sites offer diverse conditions in terms of typologies (rural, traffic, urban sites, Alpine valley environments, etc.), local climate, and vegetation types, and were selected in order to cover the complex and variable national environmental conditions. These sites are assumed to represent typical environmental conditions in France, and our observations and general tendency could therefore be extrapolated to neighboring western European countries presenting quite homogeneous environmental conditions.

The site of OPE-ANDRA is a specific monitoring observatory in a rural environment, without any village or industry within several kilometers (description available from <http://www.andra.fr>, last access: 12 February 2019). All other sites correspond to stations of regional air quality monitoring networks (AASQA). The availability of filter samples was variable from one site to the other one, depending on the sampling frequency (typically every third or sixth day). Filter collection was conducted within the PM₁₀ or the PM_{2.5} aerosol size fractions, depending on the investigated site (Table S1 in the Supplement). Moreover, co-located and simultaneous PM₁₀ and PM_{2.5} samplings were conducted at OPE-ANDRA and Revin, allowing us to investigate the distribution of primary sugar compounds between the fine and the coarse aerosol size fractions at these two sites.

Ambient aerosols were collected onto quartz fiber filters (Tissuquartz PALL QAT-UP 2500, 150 mm diameter) and preheated at 500 °C for 4 h minimum before use. After collection, all filter samples were wrapped in aluminum foils, sealed in zipper plastic bags, and stored at < 4 °C until further chemical analysis. Field blank filters were also collected, at least once a month, using the same handling procedure as for PM samples. More detailed information on the sampling periods, air sampler, number of filters, and nature of PM samples are provided in Table S1 and Fig. S1 in the Supplement.

2.2 Chemical analyses

PM samples were analyzed for various chemical species using subsampled fractions of the collection filters. In the frame of the present study, the carbonaceous matter (OC and EC) was analyzed using a thermo-optical method on a Sunset Lab

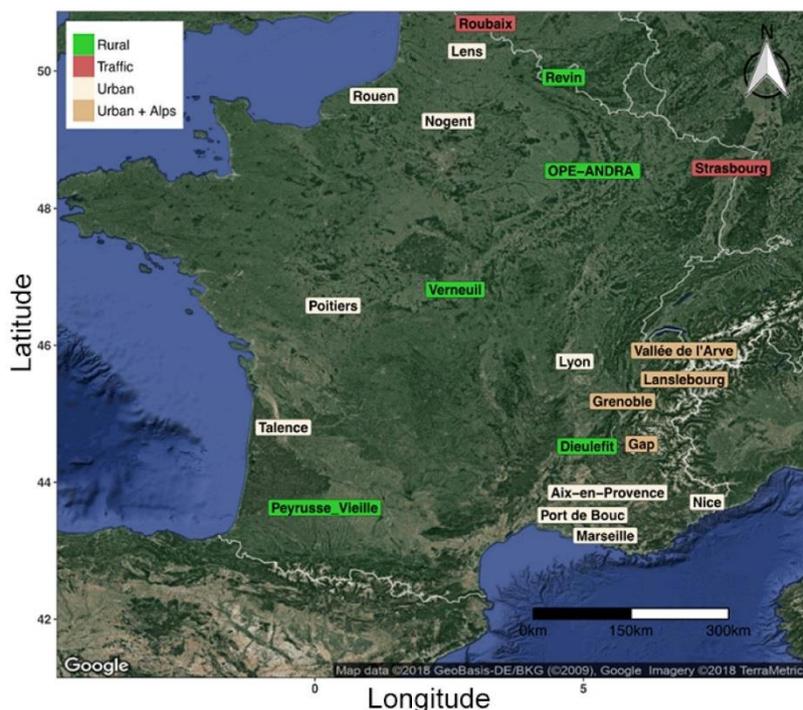


Figure 1. Map of sampling site locations in France. Green: rural background, red: traffic, wheat color: urban background, and dark-wheat color: urban background in Alpine valley sites. The areas of Grenoble (Grenoble_LF, Grenoble_CB, and Grenoble_VIF) and Vallée de l'Arve (Marnaz, Passy, and Chamonix) include three sites each. The area of Marseille includes four sites: Marseille, Mallet, Meyreuil, and Gardanne.

analyzer (Birch and Cary, 1996) as described by Aymoz et al. (2007) using the EUSAAR2 temperature program (Cavalli et al., 2010), except for the five sites of northern France where the NIOSH870 protocol was employed (Birch and Cary, 1996). OM contents were then estimated by multiplying the organic carbon mass concentrations by a fixed factor, with $OM = 1.8 \times OC$. This OM-to-OC ratio value of 1.8 was chosen based on previous studies performed in France (Favez et al., 2010; Petit et al., 2015, and reference therein) and around the world. (e.g., Aiken et al., 2008; Li et al., 2018; Ruthenburg et al., 2014; Vlachou et al., 2018), with a typical range of 1.2–2.4 for these values.

For the analysis of anhydrosugars, sugar alcohols, and primary saccharides, filter punches (typically of about 10 cm^2) were first extracted into ultrapure water, then filtered using a $0.22 \mu\text{m}$ Acrodisc filter. Depending on the site, analyses were conducted either by the IGE (Institut des Géosciences de l'Environnement) or by the LSCE (Laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement) (Table S1). At IGE, extraction was performed during 20 min in a vortex shaker and analyses were achieved using high-performance liquid chromatography (HPLC) with pulsed amperometric detection. A first set of equipment was used until March 2016, consisting

of a Dionex DX500 equipped with three columns (Metrosep Carb 1-Guard + A Supp 15–150 + Carb 1–150); the analytical run being isocratic with 70 mM sodium hydroxide eluent, followed by a gradient cleaning step with a 120 mM NaOH eluent. This analytical technique enables us to detect anhydrous saccharides (levoglucosan, mannosan, galactosan), polyols (arabitol, sorbitol, mannitol), and glucose (Waked et al., 2014). A second set of equipment was used after March 2016, with a Thermo Fisher ICS 5000⁺ HPLC equipped with 4 mm diameter Metrosep Carb 2 \times 150 mm column and 50 mm pre-column. The analytical run is isocratic with 15 % of an eluent of sodium hydroxide (200 mM) and sodium acetate (4 mM) and 85 % water at 1 mL min^{-1} . This method allows for additional separation and quantification of erythritol, xylitol, and trehalose. At LSCE, extraction was performed during 45 min by sonication and analyses were achieved using an ion chromatography (IC) instrument (DX600, Dionex) with pulsed amperometric detection (ICS3000, Dionex). A CarboPAC MA1 column was used ($4 \times 250 \text{ mm}$, Dionex), the analytical run being isocratic with 480 mM sodium hydroxide eluent. This analytical technique enables us to detect anhydrous saccharides (levoglucosan,

mannosan, galactosan), polyols (arabitol, mannitol), and glucose.

Field blank filters were handled as real samples for quality assurance. The present data were corrected with field blanks. The reproducibility of the analysis of primary sugar species (polyols, glucose), estimated from the analysis of extracts of 10 punches from the same filters, is generally in the range of 10 %–15 %.

Additional chemical analyses were conducted for most of the sites, allowing us to quantify up to 130 different chemical species (Calas et al., 2018). Then 30–35 chemical species were selected in order to achieve PMF analyses as discussed hereafter.

2.3 Statistical analysis

Species concentration measurements were first analyzed for normality using Shapiro–Wilk’s method with the statistical program *R studio interface* (version 3.4.1). Since data were generally not distributed normally, we used nonparametric statistical methods. The strength of the relationship between species concentrations was investigated using the nonparametric Spearman rank correlation method. Multiple mean comparison analyses were performed with the Kruskal–Wallis test method. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Positive matrix factorization for the source apportionment of the PM was previously performed at several sites of this study, as part of the SOURCES (Favez et al., 2016) and DECOMBIO (Chevrier, 2017) projects. We used the US EPA PMF 5.0 software (US EPA, 2015), following the general recommendation guidelines of the European Joint Research Centre (JRC; Belis et al., 2014). Briefly, the SOURCES program aimed at performing source apportionment at 15 sites using a harmonized methodology, i.e., using the same chemical species, uncertainties, constraints, and criteria for factor identification. The PMF conducted within the SOURCES project uses about 30 different species (Table S6), including carbonaceous fraction (OC, EC), ions (Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}), organic markers (polyols, i.e., sum of arabitol, mannitol, and sorbitol; levoglucosan; mannosan), and metals (Al, As, Ba, Cd, Co, Cs, Cu, Fe, La, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sb, Se, Sn, Sr, Ti, V, Zn). The PMF conducted within the DECOMBIO project, for the sites of Marnaz, Chamonix, and Passy, used aethalometer (AE 33) measurements instead of EC measurements (Chevrier, 2016). This complementary measure gives the total black carbon (BC), thus enabling the deconvolution of BC concentrations into its two main constituents: wood-burning BC (BC_{wb}) and fossil-fuel BC (BC_{ff}) (Sandradewi et al., 2008). For graphical simplicity, BC_{wb} and BC_{ff} were summed up and labeled as EC in the following figures. PMF modeling was performed separately for each site. Statistical significance was validated with bootstrapping higher than 80 % for each factor. Detailed methodology and results about these studies are given in their re-

spective papers (Chevrier, 2017; Favez et al., 2016). It should be noted that glucose was not included in the final solution for any of these PMF, since it generally produced statistical instability of the solutions (this point is further discussed in Sect. 3.2).

The PMF analysis took advantage of the ME-2 algorithm to add constraints to different chemical profiles (see Tables S3 and S4 for details). Mainly soft constraints were applied in order to add some prior knowledge about the emission sources and “clean” the different profiles without forcing the model toward an explicit solution. In particular, the polyol concentrations were “pulled up maximally”, while levoglucosan and mannosan were set to zero, and EC was “pulled down maximally” in the PBOA factor. This was achieved to avoid mixing with the biomass burning factor as well as possible influences of unrealistic high contributions of EC to PBOA. Other constraints were added parsimoniously to other factors, targeting specific proxies of sources (Table S4).

As for the general results of this large PMF study, we identified some well-known sources for almost all the sites (biomass burning, road traffic, secondary inorganics, dust and sea salt). Two other less-common factors were identified for all sites: secondary biogenic aerosols (probably from marine origin), traced mainly by the presence of methanesulfonic acid (MSA), and PBOA, traced by the presence of more than 90 % of the polyols total mass in the factor. Table S5 and Fig. S4 present a more detailed description of the chemical tracers in each factor, together with their yearly average contribution for each site. Hereafter, only the PBOA chemical profile will be extensively investigated. The uncertainties in this PBOA factor are discussed below and its stability is presented in Fig. S5. Bootstrap analysis based on 100 resampling runs evidenced the very high stability of this PBOA factor since the PBOA initial constrained factor was mapped to the PBOA bootstrap factor more than 99 % of the time.

3 Results and discussion

3.1 Relative distribution between sugar alcohols and glucose

Figure 2 presents an overview of the relative mass concentration distributions of individual chemical species quantified at two sites with very different characteristics, an urban site in Grenoble and the rural site of OPE-ANDRA. Data are presented for the warmer season (e.g., during summer and fall), when concentrations were at their maximum (see Sect. 3.4). Glucose is the most abundant species measured (average $37.6 \pm 26.4 \text{ ng m}^{-3}$), accounting on average for 25 % of primary sugar compounds (SC) total mass at both sites. Mannitol ($37.3 \pm 24.6 \text{ ng m}^{-3}$) and arabitol ($32.0 \pm 22.2 \text{ ng m}^{-3}$) are the second and third most abundant species, accounting for 25 % and 23 % of SC mass, respectively. Trehalose is

3362

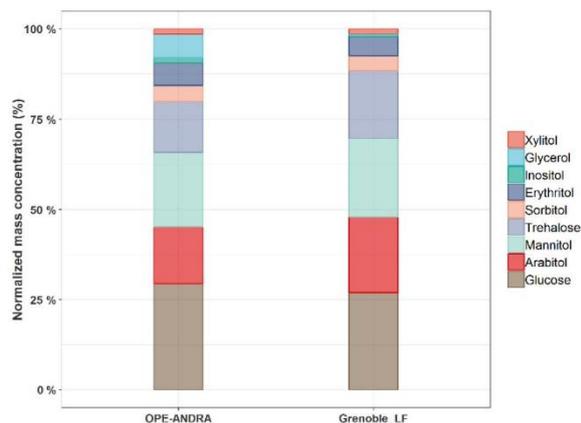


Figure 2. Overview of relative mass distributions of individual primary sugar alcohols and saccharide compounds quantified in PM₁₀ samples at two sites over summer and autumn periods (June to November) corresponding to maximal atmospheric concentrations of sugar alcohols/saccharide compounds.

relatively abundant in samples from these two sites ($20.1 \pm 16.2 \text{ ng m}^{-3}$), accounting for 14 % of SC mass, but in general its concentration is frequently below the limit of quantification for samples from other sites in France. The other identified polyols (i.e., erythritol, inositol, glycerol, sorbitol, and xylitol) present lower concentration levels ($4.9 \pm 2.1 \text{ ng m}^{-3}$), corresponding altogether to 13 % of SC total mass.

Such ambient mass concentration distribution patterns are similar (but with variable intensities) to those previously reported for aerosol samples collected at various locations around the world. For example, Verma et al. (2018) found that glucose, and arabitol together with mannitol, contributed to 16.7 % and 48.1 %, respectively, of total primary sugar compounds in aerosols from Chichijima island. Similarly, Yttri et al. (2007b) showed that glucose and the pair arabitol and mannitol were the main contributors of total primary monosaccharides and sugar alcohols in aerosols collected from four various background sites in Norway. In addition, Carvalho et al. (2003) reported that arabitol, mannitol, and glucose are the most dominant primary sugar compounds in aerosols from rural background and boreal forest sites in Germany and Finland, respectively.

Although various primary sugar alcohols and saccharides have been detected and quantified for most of the investigated sites, the following study focuses only on the three major and ubiquitous species, namely arabitol, mannitol, and glucose. Figure 3 presents their average relative contributions at all sites, for the warmer period, displaying very similar features at a first glance. However, discrepancies could be observed from site to site, as discussed in the following sections.

A. Samaké et al.: Polyols and glucose particulate species

3.2 Relationships between selected primary sugar compounds

Figure 4 summarizes linear correlations obtained between arabitol and mannitol concentrations at each site during the warmer period. Medium to very high coefficients of determination could be observed ($0.58 \leq R^2 \leq 0.93$; $30 \leq n \leq 143$ or $45 \leq n \leq 341$ for PM_{2.5} and PM₁₀ series, respectively), with slopes in a rather narrow range (between 0.59 and 1.10), and quite low intercepts (always below 9 ng m^{-3}). Such co-variations indicate that both species are most probably co-emitted, by one or several type(s) of sources, at each site during the summer–autumn period. These observations are in agreement with previous studies also showing strong co-variations between arabitol and mannitol (Kang et al., 2018; Verma et al., 2018; Zhu et al., 2015). Therefore, it seemed reasonable to consider both species together so that their concentrations are summed up and labeled as “polyols” in the following sections.

Conversely, linear correlations between glucose and polyol concentrations are generally weaker ($0.10 < R^2 \leq 0.78$), with slopes varying over a much larger range (between 0.12 and 0.94), and variable intercepts (between -5.6 and 16.4 ng m^{-3}). This suggests that glucose concentrations might follow a different pattern compared to that of polyols, either due to different emission sources, or different chemical stability in the atmosphere. It is therefore reasonable to keep glucose as a separate chemical species in the following discussion.

It should be emphasized that the variability in the slope of the regressions between the chemical concentrations is most probably related to the emissions and atmospheric processing. Particularly in the case of mannitol and arabitol, they may be influenced by biogenic or biotope characteristics. Nevertheless, no evident relationship between the slope values and the typology or the geographical location of the sites could be observed (Fig. 4).

3.3 Relative distributions between PM₁₀ and PM_{2.5}

Figure 5 shows the average PM₁₀ and PM_{2.5} concentrations of polyols and glucose at OPE-ANDRA and Revin during the summer and autumn seasons. The polyol mass concentrations ranged from 7.5 ± 10.9 to $27.8 \pm 33.3 \text{ ng m}^{-3}$ in PM_{2.5}, and from 48.9 ± 38.2 to $73.5 \pm 61.8 \text{ ng m}^{-3}$ in PM₁₀, in Revin and OPE-ANDRA sites, respectively. PM₁₀-to-PM_{2.5} ratios were then on average of about 3 to 5. Similar size distribution patterns, with variable intensity, were observed for glucose (Fig. 5). These results indicate that polyols and glucose are mainly associated with the coarse PM fraction. This observation is in good agreement with several previous investigations where polyols (especially arabitol and mannitol), together with glucose, were prevalent in the coarse fraction (Fu et al., 2012; Fuzzi et al., 2007; Pio et al., 2008; Yttri et al., 2007b). However, Carvalho et al. (2003) reported different

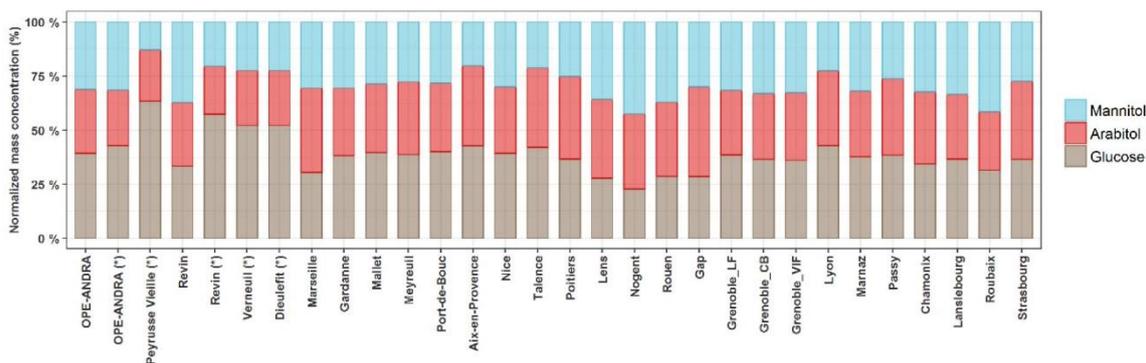


Figure 3. Average mass concentration distributions of arabitol, mannitol, and glucose. Symbol (*) indicates PM_{2.5} aerosol samples. Only data for warmer season (June to November), corresponding to maximal atmospheric concentration of polyols and glucose, are shown.

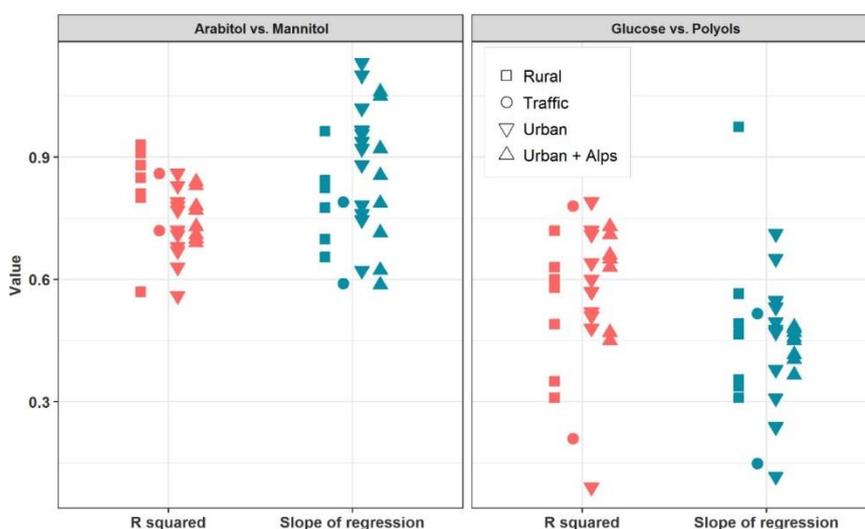


Figure 4. Linear regression analysis between selected primary sugar compound mass concentrations (i.e., arabitol, mannitol, and glucose) during summer and autumn seasons (June to November) for all the sites considered in this study.

size distributions for polyols and glucose, with variable fine or coarse mode maxima depending upon sampling location. For instance, maximum atmospheric concentrations of mannitol were associated to fine and coarse aerosols from boreal forest (Finland) and rural background sites (Germany), respectively. The authors hypothesized that these observations are due to different assemblages of dominant fungal biota (with variable aerodynamic characteristics) at different sites. Some other previous studies showed aerodynamic diameters typically ranging from 2 to 10 μm , even though a few airborne bacterial/fungal spores could exceed that size (Bauer et al., 2008a; Elbert et al., 2007; Huffman et al., 2012; Zhang et al., 2015).

Hence, although the precise mechanisms of atmospheric emission of particulate polyols and glucose are not fully re-

solved, our observations are in good agreement with ambient mass concentrations of polyols and glucose being likely associated with biological particles, as already suggested elsewhere (Fu et al., 2012; Verma et al., 2018; Zhang et al., 2015). These species could enter into the atmosphere through either natural or anthropogenic resuspension of surface soils and associated bacterial/fungal spores (containing polyols and primary sugar compounds), or via a direct input resulting from microbial activities (e.g., sporulation). Another hypothesis would be the abrasion of leaves and the subsequent release of microbial organisms and plant debris (Fu et al., 2012; Medeiros et al., 2006; Simoneit et al., 2004b).

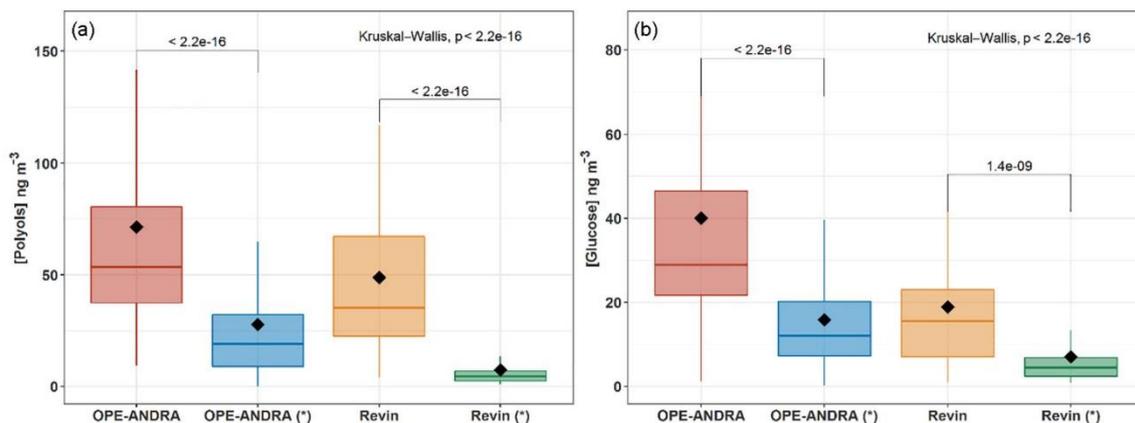


Figure 5. Box plots of mass concentrations of polyols (a) and glucose (b) in PM_{10} and $PM_{2.5}$ (with symbol * samples). Black markers inside each box indicate the mean concentration value, while the top, middle, and bottom lines of the box represent the 75th, median, and 25th percentile, respectively. The whiskers at the top and bottom of the box extend from the 95th to the 5th percentile. The number of samples was $N = 123$ for OPE-ANDRA and $N = 87$ for Revin. Statistical differences between average mass concentrations were analyzed with the Kruskal–Wallis methods ($p < 0.05$).

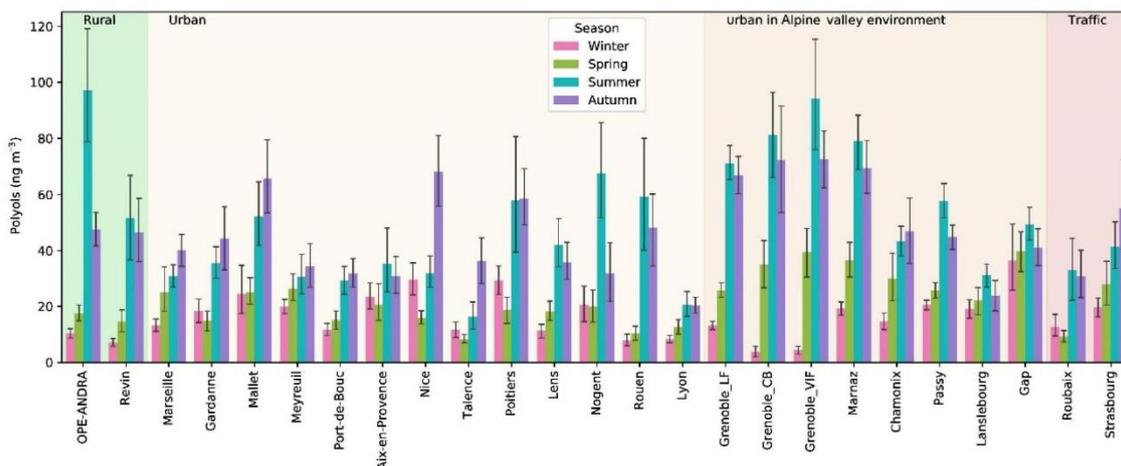


Figure 6. Spatial and seasonal distributions of atmospheric polyol average concentrations ($ng\ m^{-3}$) for various types of sites in France. Error bars correspond to standard deviations calculated with seasonal concentrations. Years of PM sampling campaigns are not concurrent at all sites (see Fig. S1). The seasons were defined as follows: Winter is December to February, Spring is March to May, Summer is June to August, and Autumn is September to November.

3.4 Spatial and seasonal distribution of atmospheric concentrations

3.4.1 Spatial and seasonal patterns of polyol concentrations

As illustrated in Fig. 6, significant concentrations of polyols were measured at each investigated site, evidencing the ubiquity of these organic compounds. The annual average concentration levels of polyols measured in PM_{10} aerosols

at all sites ($33.2 \pm 33.5\ ng\ m^{-3}$; see Table S2) are within the range previously reported for urban and rural sites across Europe (Burshtein et al., 2011; Di Filippo et al., 2013; Pietrogrande et al., 2014; Yttri et al., 2007b, 2011). Additionally, polyol mass concentrations clearly exhibit seasonal trends, with variable intensity according to the sampling sites. On a seasonal average, polyols are more abundant in summer ($46.8 \pm 43.6\ ng\ m^{-3}$) and autumn ($43.0 \pm 36.7\ ng\ m^{-3}$), followed by spring ($19.0 \pm 13.6\ ng\ m^{-3}$) and winter ($16.2 \pm 11.5\ ng\ m^{-3}$). The average concentrations of polyols are at

least 2 to 3 times higher during summer or autumn months than during the cold months, with a ratio that can be as high as 8 to 10.

Previous studies also reported a similar seasonal variation pattern for urban and rural aerosol samples collected at various locations. For example, Pashynska et al. (2002) measured higher atmospheric polyol (arabitol, mannitol) contents during late summer and autumn in Belgium. Several other studies reported higher concentrations of polyols in summer than in spring and winter time in aerosols collected from Texas, USA, and Jeju island, South Korea, respectively (Fu et al., 2012; Jia et al., 2010a, b). More recently, Liang et al. (2016) and Verma et al. (2018) also reported similar seasonal distributions for aerosols sampled in Beijing, China, and the north-western Pacific, respectively.

The higher atmospheric polyol concentrations observed are likely due to the increased contribution from metabolically active microbial-derived sources (fungi, bacteria, green algal lichens) as a result of external stressors such as heat, drought, and relative moisture. Indeed, fungal and prokaryotic cell activities, including their growth and sporulation, are promoted by high temperature and humid conditions occurring in summer and autumn (China et al., 2016; Elbert et al., 2007b; Jones and Harrison, 2004; Rathnayake et al., 2017).

As also evidenced from Fig. 6 that atmospheric polyol concentrations do not present any significant seasonal differences related to the site typology (rural, traffic, urban sites with/without Alpine influences) or latitude. There is some tendency toward higher concentrations in summer in Alpine environments, but some other sites (like the rural site of OPE-ANDRA in the northeast of France) can reach the same levels of concentrations. We tested several types of hierarchical classifications, including variables like monthly or seasonal mean polyol concentrations, the arabitol-to-mannitol ratio, or linear regression parameters (slope, *R* square) but none of them led to a simple clustering of the sites that would explain the variability of the concentrations.

3.4.2 Spatial and seasonal patterns of glucose concentrations

The annual average concentrations of glucose measured in PM₁₀ aerosols at all sites ($20.4 \pm 15.6 \text{ ng m}^{-3}$; see Table S2) are comparable to those previously reported for various sites across Europe (Alves et al., 2006; Theodosi et al., 2018; Yttri et al., 2007b, 2011). Like polyols, the atmospheric concentrations of glucose also display seasonal and site-to-site variations (Fig. 7). The ambient seasonal mean concentrations (with standard deviations) of glucose are maximum in summer ($25.0 \pm 24.2 \text{ ng m}^{-3}$) and autumn ($24.6 \pm 19.8 \text{ ng m}^{-3}$), followed by spring ($15.8 \pm 12.4 \text{ ng m}^{-3}$) and winter ($12.6 \pm 10.2 \text{ ng m}^{-3}$). The summer to winter ratio for glucose seems generally lower than that of polyols, with higher ratios in the Alpine areas than in other parts of France. However, as for

polyols, it remains difficult to classify the sites according to any criteria linked to site typology or latitude.

The seasonal trend of glucose concentrations in the present work is similar to that recently observed for aerosols (PM₁₀ or total suspended particles) collected at various environmental background (suburban, urban, and coastal) sites around the world (Liang et al., 2016; Srithawirat and Brimblecombe, 2015; Verma et al., 2018). On average, a wide range of daily glucose concentrations (expressed as min–max, mean) in PM₁₀ ($0.1\text{--}297.2 \text{ ng m}^{-3}$, $20.4 \pm 15.6 \text{ ng m}^{-3}$) were observed in the present study. These values are comparable to those in PM₁₀ ($8.4\text{--}93.0$, 47.0 ng m^{-3}) reported from an urban site in Norway (Yttri et al., 2007b). More recently, Liang et al. (2016) also reported similar concentrations in PM₁₀ ($3.1\text{--}343.6$, $46.2 \pm 27.5 \text{ ng m}^{-3}$) from Beijing (China).

The sources and formation processes of glucose in the atmosphere are not currently well known and are rarely discussed. Glucose is an important carbon source for metabolically active soil microbiota, and it is commonly present in vascular plants. Additionally, cellulose (a linear polymer made of glucose subunits linked by β -1,4 bonds) is one of the most important form of organic compounds in terrestrial ecosystems and a major plant structural polymer (Boex-Fontvieille et al., 2014). It can also be quite abundant in the atmosphere (Puxbaum and Tenze-Kunit, 2003). Hence, it is hypothesized that ambient glucose could be formed through active microbial (bacteria, fungi, etc.) enzymatic hydrolysis of cellulose in plant debris. Consistent with these observations, glucose could be released into the atmosphere from both vascular plant materials (leaves, fruits, pollens, etc.) growing in spring and decomposing in autumn/summer and soil microbiota, as already suggested elsewhere (Di Filippo et al., 2013; Jia et al., 2010a; Medeiros et al., 2006; Verma et al., 2018; Zhu et al., 2015).

3.4.3 Relative contributions to aerosol organic matter concentrations

The average contribution of polyols to the OM content of PM clearly displayed a seasonal behavior, as shown in Fig. 8. Here again, contributions are 2 to 10 times higher during summer and autumn compared to winter and spring, consistent with the assumption of higher emissions during these periods. The seasonal mean contribution of polyols to OM fluctuates from site to site and accounts for 0.1 % to 2.1 % of overall OM for these French sites (Fig. 8). Similarly, the seasonal mean concentrations of polyols together with glucose represent between 0.2 % and 3.1 % of total OM at these sites (Fig. S2). However, on a daily basis (Samaké et al., 2018), atmospheric polyol mass concentrations can represent up to 6.3 % of total OM in PM₁₀, indicating that polyols can be amongst the major molecular species identified in aerosol organic matter (Fig. S3). Again, we could not find any simple way to group the sites according to their characteristics (typology or latitude, or climatic region) in order

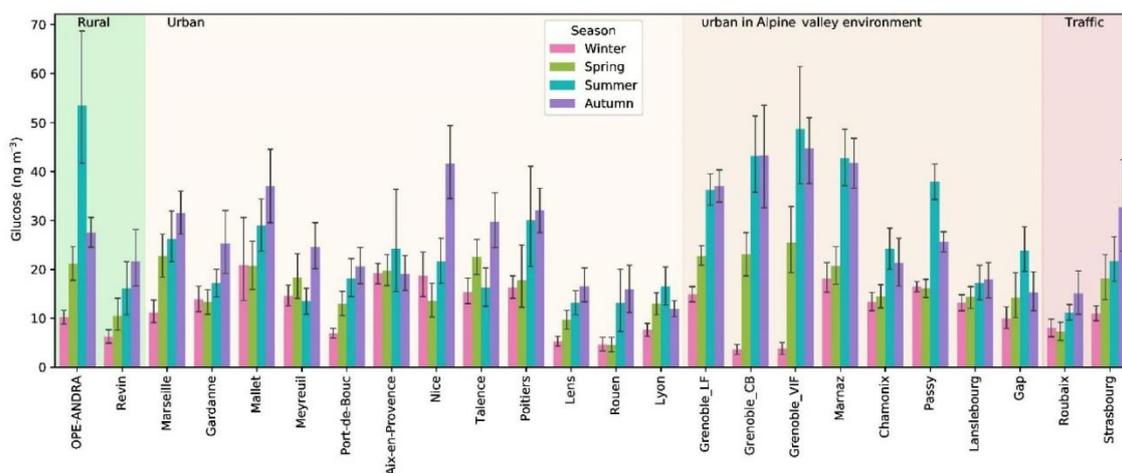


Figure 7. Spatial and seasonal distributions of atmospheric glucose levels (ng m^{-3}) for various types of sites in France (except the site of Nogent, which presented too many missing values). Error bars correspond to standard deviations calculated with seasonal concentrations.

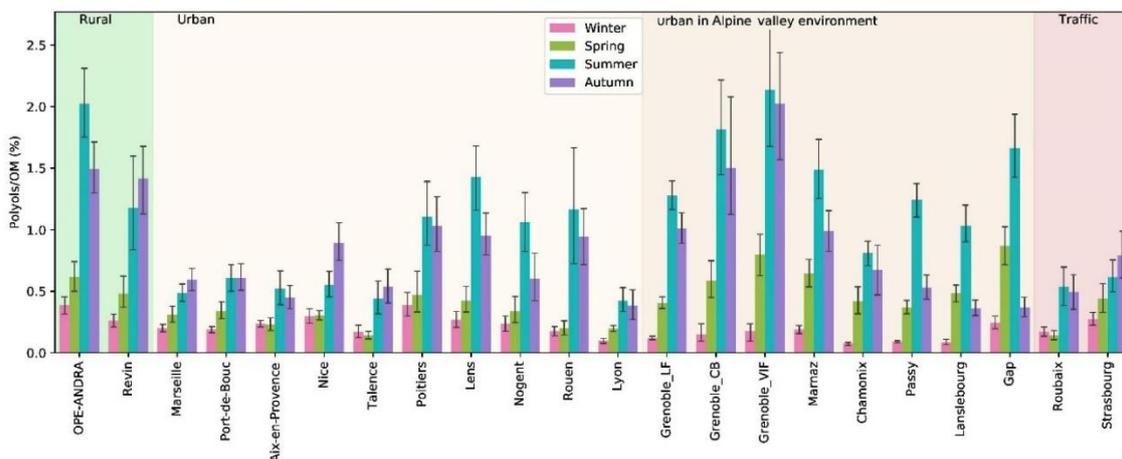


Figure 8. Spatial and seasonal distributions of mean contributions (in %) of polyols to the organic matter content of PM for various types of sites in France. Daily time series of organic carbon (OC) were not available for the following sites: Gardanne, Mallet, and Meyreuil. Error bars correspond to standard deviations calculated with seasonal concentrations.

to better understand the drivers behind the variability in this mass fraction. Further studies are currently being conducted using multi-criterion examinations.

The seasonal polyols-to-OM distribution patterns in this study are comparable to those found for different urban or rural sites in Europe (around 0.2 % to 2.5 % of OM; Pashynska et al., 2002; Yttri et al., 2007b). Zhu et al. (2015) also reported a similar seasonal polyols-to-OM contribution trend for aerosols sampled at Cape Hedo (coastal site, Japan).

3.5 Primary biogenic factor in PMF studies

The sum of polyols (arabitol + mannitol) represents only a small fraction of the total OM. However, as proxies of PBOA, they are most probably emitted with other chemical species. Emission from biological particles is a complex topic since it may include a wide variety of compounds, both organic and inorganic (Elbert et al., 2007; Zhang et al., 2015). Moreover, it is not clear if polyols are mainly emitted directly in the atmosphere or are linked to other materials, e.g., with soil dust during resuspension processes. To investigate the relationship between polyols and other molecular tracers of

emission sources, it is possible to perform simple correlation analysis with individual chemical species. This approach has the disadvantage of being a one-to-one relation and thus highly sensitive to the dynamics of all PM emission sources, not only the one we are interested in. Alternatively, another way is to use a PMF approach, also based on correlations but including much more information on the temporal variations of the different sources influencing the PM chemistry at a given receptor site.

As mentioned in Sect. 2.3, the PMF results used in this study include sites of different typologies (rural, traffic, urban sites in Alpine valley environments, etc.) for 16 different locations spread over France and part of the current dataset. At each site, the PMF studies allowed us to identify a PBOA factor, characterized by the presence of more than 90 % of the total polyol content (sum of arabitol, mannitol, and sorbitol), as presented in Table S5 and Fig. S6. Moreover, the sensitivity of this factor to random noise in the data was investigated thanks to randomly resampling the input matrix of observation. In PMF analysis, this is done via the bootstrap method (Paatero et al., 2014) in the constrained run. The PBOA factor was always mapped to itself for 13 of the sites and nearly always (97 %) for the last three ones. It means that the PBOA factor does have a very high statistical stability since it never swaps with another factor (see Fig. S5). Hence, the chemical composition of this factor may be informative to investigate the PBOA source components (Table S6), and to evaluate the importance of PBOA emissions in terms of OM mass apportionment.

3.5.1 Contributions of PBOA to OM and polyols to PBOA

Altogether, the results from the 16 sites highlight the importance of the PBOA source contribution to total OM. As shown in Fig. 9, the OM apportioned by the PBOA factor represents a significant fraction of the total OM mass on a yearly average (range 6 %–28 %; average 13 ± 6 %). When considering only the summer period (June–July–August), this contribution is even larger and can exceed 40 % of the total OM at sites in the Alpine area (Marnaz, Passy, Chamonix, Grenoble_LF), which are partially protected from large regional influences due to the local topography. This result may be nuanced, in particular during summer, since some extent of mixing between PBOA and biogenic secondary organic aerosols (BSOAs) cannot be entirely excluded. However, several evidences tend in favor of a nonsignificant mixing between BSOA and PBOA. First, the ratio of polyols-to- OC_{PBOA} shows a low variability from site to site, while it is unlikely that such a secondary process led to the same amount of OC for all sites since they present different meteorology, sunshine duration, etc. Second, the bootstrap analysis does not show any “swap” between factors for the PBOA profile for all sites, indicative of a well-defined factor (see Fig. S5). Finally, the OC_{PBOA} -to-polyols ratio in this work

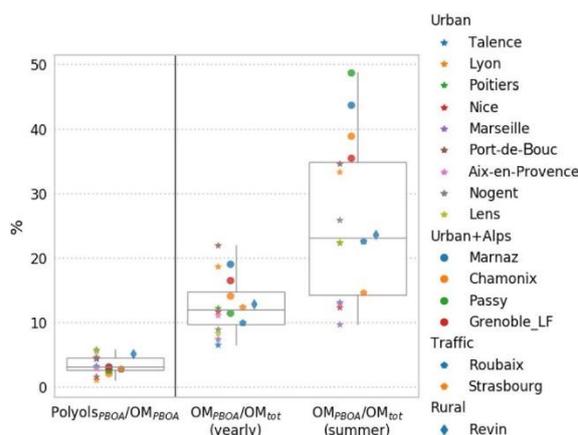


Figure 9. Mass contribution of polyols to OM in the PBOA factor, and relative contributions of the OM_{PBOA} factor to the total OM in PM for the 16 studied sites where the PMF model was run, over the year and summertime only. Stars and circles refer to urban sites without and with Alpine valley influence, respectively. Pentagons correspond to traffic sites and diamonds to rural sites.

(about 16) is in the range expected for fungal spores (12–27, when arabitol and mannitol are considered together) (Bauer et al., 2008a; Yttri et al., 2011).

Interestingly, some previous work using the same samples from the sites in the Arve valley (Passy, Chamonix) showed that about 90 % of the OM is from modern origin (using ^{14}C measurements) during summer, with no apparent correlation between this modern carbon and polyol concentrations (Bonvalot et al., 2016). Hence, despite being an important contributing source, PBOA is not the major biogenic source in this type of environment.

Interestingly, opposite to the case of the Alpine valleys where this proportion is the highest, the ratios OM_{PBOA} -to- OM_{tot} are amongst the lowest for coastal environments (Talence, Marseille, Nice), a possible indication that the marine environment is not a large emitter for these species. Recently, much lower concentrations of polyols in aerosols from marine environments than those in terrestrially influenced sites were also reported off the coast of Japan, also suggesting a higher contribution from terrestrial sources (Kang et al., 2018).

As illustrated in Fig. 9, polyols represent only a small fraction of the OM apportioned in the PBOA factor (1.2 %–6.0 %; average 3.0 ± 1.5 %) for the 16 studied sites. This variability is indeed rather small, considering the wide range of sites and the diversity of other potential sources (on average 8 to 10 PMF factors were obtained for the different sites). Indeed, this narrow range of the polyol fraction to the OM_{PBOA} highlights the stability of the chemical profile of this source over a large regional scale. It indicates also that, if polyols are

3368

good proxies of the PBOA sources, a large amount of other organic species are co-emitted, which still remain unknown.

3.5.2 PBOA profile constituents and emission process

Figure 10 shows the contribution (in micrograms of species per micrograms of PM in the PBOA factor profile) of each chemical species included in the averaged PBOA factor from the 16 PMF studies. The principal contributors are OC and EC, and significant fractions of crustal material also appear (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Al, Ba, Cu, Fe, Mn, Ti, Zn) as well as secondary contributors such as nitrate and sulfate. However, EC appears to be highly variable both within and between sites under consideration. The reader may refer to Fig. S7 for an estimation of the EC mass uncertainties at the different sites. On average, the PBOA factor does not comprise a large fraction of metals and trace elements, most of them being below $1 \text{ pg } \mu\text{g}^{-1}$. Here again, the low variability in the PBOA chemical profile encountered across a large array of sites is remarkable.

The contribution from some crustal material could agree with the coarse mode distributions of polyols (Sect. 3.3) and could be indicative of an emission process with the entrainment of spores with soil dust resuspension. To investigate the importance of mineral dust in the PBOA factor, we clustered the chemical components of PM from PBOA into seven classes: OM ($= 1.8 \times \text{OC}$), EC, NO_3^- , NH_4^+ , non-sea-salt sulfate (nss-SO_4^{2-}), sea-salt, and dust. The nss-SO_4^{2-} is calculated from the measured SO_4^{2-} minus the sea-salt fraction of SO_4^{2-} ($\text{nss-SO}_4^{2-} = \text{SO}_4^{2-} - \text{ssSO}_4^{2-}$ where $\text{ssSO}_4^{2-} = 0.252 \times \text{Na}^+$) according to Seinfeld and Pandis (1997). The sea-salt fraction is calculated according to Putaud et al. (2010): sea-salt = $\text{Cl}^- + 1.47 \times \text{Na}^+$. Finally the dust fraction is estimated thanks to Putaud et al. (2004b) as dust = $(\text{nss-Ca}^{2+}) \times 5.6$ with nss-Ca^{2+} meaning non-sea salt Ca^{2+} and is computed thanks to $\text{nss-Ca}^{2+} = \text{Ca}^{2+} - \text{Na}^+ / 26$. We note that the conversion coefficient provided by Putaud et al. (2004b) may be influenced by an extreme value and then gives only a low estimate of dust resuspension.

Figure 11 presents the normalized average contributions of these seven classes to the PBOA mass for the 16 sites with PMF modeling. It clearly reveals that the PBOA factor is dominated by contributions from OM ($78 \pm 9\%$), followed by EC ($9 \pm 7\%$), and only a minor contribution from the dust class ($3 \pm 4\%$).

The large value for the contribution of EC is driven by two high values obtained at the sites of Strasbourg (that reaches 25%) and Chamonix (18%) both influenced by direct and indirect traffic emissions. However, six other sites present no EC in PBOA. Moreover, the uncertainties of EC in the PBOA profile of Strasbourg and Chamonix is rather high (between 5% and 30% of PM mass at Strasbourg, see Fig. S7). On a yearly average, EC apportioned by this factor (0 to 400 ng m^{-3} depending on the site) is close to the rural

A. Samaké et al.: Polyols and glucose particulate species

EC background in France of about 300 ng m^{-3} (Golly et al., 2018).

This result on the general chemical profile of the PBOA factor, with a low crustal fraction, tends to invalidate the hypothesis of an emission process associating PBOA material with mineral dust resuspension. Indeed, our findings rather suggest that a main part of PBOA (and polyols) is most likely associated with direct biological particle emissions. It leaves only a minor fraction that could be linked to the mechanical resuspension of PBOA with crustal elements. Some minor fraction of EC in this factor could come from resuspended EC-containing dust particles being accumulated in topsoil as demonstrated in previous works (Forbes et al., 2006; Hammes et al., 2007; Zhan et al., 2016). Hence, the origin of the larger fraction of the contribution of EC remains unknown. Our conclusions are in good agreement with those made by Jia and Fraser (2011), based on the concentrations of these chemicals in different types of samples, i.e., size-fractionated (equivalent to $\text{PM}_{2.5}$ and PM_{10}) soil, plant, fungi, and atmospheric $\text{PM}_{2.5}$ and PM_{10} . They found that the ambient concentrations of primary saccharide compounds at the suburban site of Higley (USA) are typically dominated by contributions of biological materials rather than resuspension of soil dust particles and associated microbiota.

4 Conclusions

The contribution of primary biogenic organic aerosols to PM is barely documented in the scientific literature. The present study aimed at providing a broad overview of the spatial and temporal evolution of concentrations and contributions to aerosol organic matter (OM) of dominant primary sugar alcohols and saccharide compounds for a broad selection of environmental conditions in France. With 28 sites and more than 5340 samples, it is, to our knowledge, the most comprehensive dataset for these compounds. The main results obtained indicate the following:

- Among the identified polyols, arabitol together with mannitol are the major species by mass, with lesser amounts of other polyols (e.g., erythritol, inositol, glycerol, sorbitol, and xylitol). Glucose is the dominant primary monosaccharide and its relative abundance is comparable to the sum of arabitol and mannitol.
- The two main polyols (arabitol and mannitol) together with glucose are mainly present within the coarse aerosol mode.
- At nearly all sites, ambient levels of the main polyols and glucose displayed clear seasonal variation cycles, with a gradual increase from spring and maximum in summer and autumn aerosols, followed by a sudden decrease in late autumn, and a winter minimum.

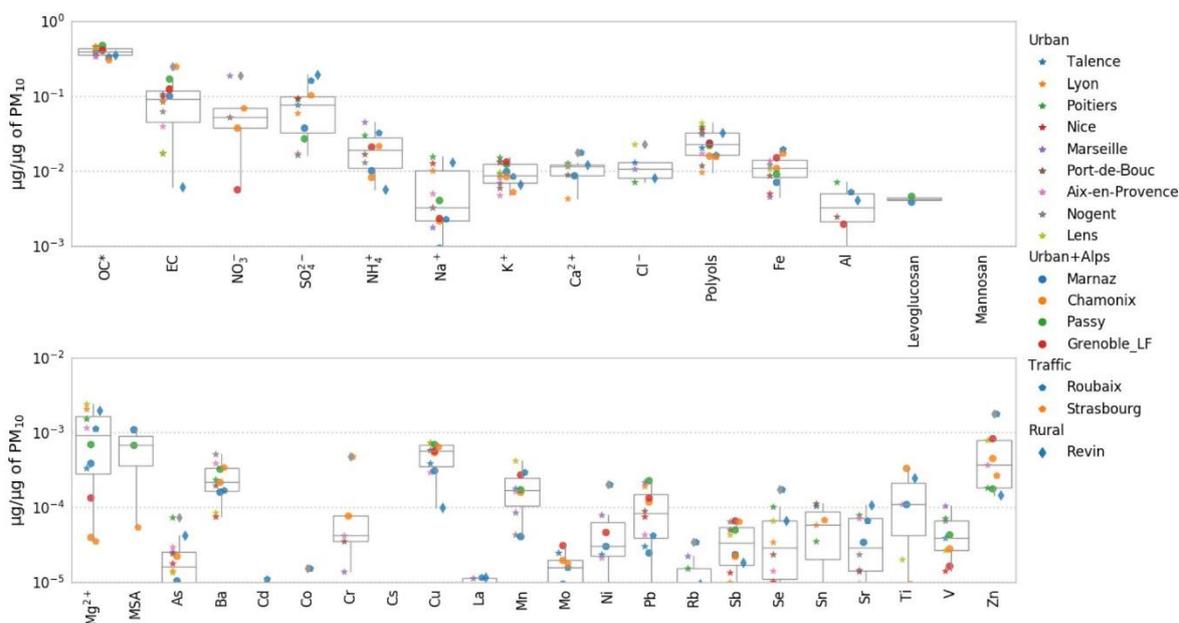


Figure 10. PMF chemical profile of the PBOA factor in the DECOMBIO and SOURCES programs expressed as a fraction of the PM mass. Values lower than a few $\mu\text{g}\mu\text{g}^{-1}$ are not displayed on purpose. For each box, the top, middle, and bottom lines represent the 75th, median, and 25th percentile, respectively. The whiskers at the top and bottom of the box extend from the maximum to the minimum. OC* corresponds to the bulk organic carbon fraction minus the carbon in the characterized organic species. MSA is methanesulfonic acid.

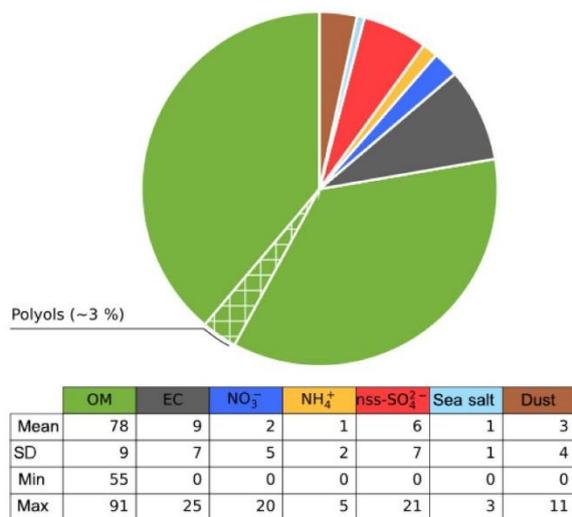


Figure 11. Average contribution (%) of species in the PBOA factor for the sites in SOURCES and DECOMBIO. The hatched area represents the proportion of the OM apportioned by the polyols (see text for reconstruction method).

- Atmospheric concentrations of the main polyols and glucose fluctuate according to site and season, and ac-

count each for between 0.1 % and 2.1 % of OM on a seasonal average basis at these French sites.

- Ambient mass concentrations of arabitol and mannitol are comparable. Meanwhile, they display very good temporal covariation, with ratios varying between sites. Conversely, linear correlations between the main polyols and glucose concentrations are much lower, suggesting different atmospheric sources or atmospheric processes.
- Arabitol and mannitol are efficient organic markers for PBOA. PMF studies of the yearly series from 16 sites give contributions of the primary biogenic emission (traced with the main polyols) to the total OM around $13 \pm 6\%$ on a yearly average and $26 \pm 12\%$ during summer, thereby showing that PBOA is an important source of total OM in PM_{10} for all sites across France. Furthermore, the average PBOA chemical source profile is made up of a very large fraction of OM ($78 \pm 9\%$ of the total PBOA mass on average), suggesting it is mainly related to direct biogenic emissions from biological particles. Note that the presence of BSOA within the PBOA factor, particularly during summer, could not be fully ruled out and further research using additional organic tracers (such as 3-methylbutanecarboxylic acid, pinic acid, and/or cellulose) are still needed to solve this is-

3370

sue. Additionally, the low crustal fraction indicates that this factor is weakly linked to soil dust resuspension associated with biological material.

- However, the PBOA source remains chemically poorly characterized as the main polyols represent only a small fraction of its total OM mass ($3.0 \pm 1.5\%$ on average).
- Despite comparable high concentrations in the atmosphere, the sources and processes leading to glucose concentrations and seasonal evolutions are still elusive. Indeed, the different PMF performed with glucose as input variable do not lead to a statistically stable solution.

Further investigations of the emission pathways and chemical characterization of the PBOA source associated with polyols are ongoing, which may improve our understanding of the dynamics at various geographical scales for a potential implementation in emission models in the future.

Data availability. All relevant data for this paper are archived at the IGE (Institut des Géosciences de l'Environnement), and are available upon request from the corresponding author (Jean-Luc Jaffrezo).

Supplement. The supplement related to this article is available online at: <https://doi.org/10.5194/acp-19-3357-2019-supplement>.

Author contributions. JIJ was the supervisor for the PhDs of AS, FC, and SW, and for the postdoc of DS. He directed all personnel who performed the analysis at IGE. He was coordinator or principal investigator (PI) of the programs that generated the data for 18 of the 28 sites in this study (OPE-ANDRA, Part'Aera, CAMERA, SRN 2013, 3 Villes PACA, DECOMBIO, QAMECS) and co-PI for programs for five other sites. He is the coordinator for the CNRS LEFE-EC2CO CAREMBIOS program that is funding the work of AS. GU was the co-supervisor for the PhD of AS and SW. OF is the coordinator of the CARA program, (co-)funding and supervising the filter sampling and chemical analyses at 12 of the 28 sites. EP, OF, and VR supervised the PhD of DMO who investigated the five sites in northern France. Finally, JLB was the coordinator (program Lanslebourg) or partner of several programs whose data were used in this study (OPE-ANDRA, Part'Aera, 3 Villes PACA, DECOMBIO), and OF was the coordinator of the SOURCES program, which includes the work of DS as a postdoctoral fellow under the supervision of JIJ to gather and prepare most of the datasets used in the present study.

All authors from the ANDRA (author affiliation no. 6) and AASQA (author affiliation nos. 7 to 14) are representatives for each network that conducted the sample collection and the general supervision of the sampling sites.

FC and DS ran the PMF analysis. AS, SW, and JIJ processed the data and wrote the manuscript. All authors reviewed and commented on the manuscript.

A. Samaké et al.: Polyols and glucose particulate species

Competing interests. The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgements. The PhD of Abdoulaye Samaké and Samuël Weber are funded by the Government of Mali and ENS Paris, respectively. We gratefully acknowledge the LEFE-CHAT and EC2CO programs of the CNRS for financial supports of the CAREMBIOS multidisciplinary project. Samples were collected and analyzed in the frame of many different programs funded by ADEME, Primequal, the French Ministry of Environment, the program CARA led by the French Reference Laboratory for Air Quality Monitoring (LCSQA), and actions funded by many AASQA, ANDRA, IMT Lille Douai (especially Labex CaPPA ANR-11-LABX-0005-01 and CPER CLIMBIO) projects. Analytical aspects were supported at IGE by the Air-O-Sol platform within Labex OSUG@2020 (ANR10 LABX56). We acknowledge the work of many engineers in the lab at IGE for the analyses (Aude Wack, Céline Charlet, Fany Donaz, Fany Masson, Sylvie Ngo, Vincent Lucaire, and Anthony Vella), as well as Bruno Malet and Laurent Y Alleman. (IMT Lille Douai) for analyzing trace and major elements in aerosols from the northern sites. Finally, the authors would like to kindly thank the dedicated efforts of many other people at the sampling sites and in the laboratories for collecting and analyzing the samples. The authors would like to thank the editor and several anonymous referees for comments that greatly improved the manuscript.

Edited by: Willy Maenhaut

Reviewed by: four anonymous referees

References

- Aiken, A. C., DeCarlo, P. F., Kroll, J. H., Worsnop, D. R., Huffman, J. A., Docherty, K. S., Ulbrich, I. M., Mohr, C., Kimmel, J. R., Sueper, D., Sun, Y., Zhang, Q., Trimborn, A., Northway, M., Ziemann, P. J., Canagaratna, M. R., Onasch, T. B., Alfarra, M. R., Prevot, A. S. H., Dommen, J., Duplissy, J., Metzger, A., Baltensperger, U., and Jimenez, J. L.: O/C and OM/OC ratios of primary, secondary, and ambient organic aerosols with high-resolution time-of-flight aerosol mass spectrometry, *Environ. Sci. Technol.*, 42, 4478–4485, 2008.
- Alfarra, M. R., Prevot, A. S. H., Szidat, S., Sandradewi, J., Weimer, S., Lanz, V. A., Schreiber, D., Mohr, M., and Baltensperger, U.: Identification of the mass spectral signature of organic aerosols from wood burning emissions, *Environ. Sci. Technol.*, 41, 5770–5777, 2007.
- Alves, C., Pio, C., Carvalho, A., and Santos, C.: Atmospheric carbonaceous aerosols over grasslands of central Europe and a Boreal forest, *Chemosphere*, 63, 153–164, 2006.
- Aymoz, G., Jaffrezo, J. L., Chapuis, D., Cozic, J., and Maenhaut, W.: Seasonal variation of PM₁₀ main constituents in two valleys of the French Alps. I: EC/OC fractions, *Atmos. Chem. Phys.*, 7, 661–675, <https://doi.org/10.5194/acp-7-661-2007>, 2007.
- Bauer, H., Claeys, M., Vermeylen, R., Schueller, E., Weinke, G., Berger, A., and Puxbaum, H.: Arabitol and mannitol as tracers for the quantification of airborne fungal spores, *Atmos. Environ.*, 42, 588–593, 2008a.

- Bauer, H., Schueller, E., Weinke, G., Berger, A., Hitznerberger, R., Marr, I. L., and Puxbaum, H.: Significant contributions of fungal spores to the organic carbon and to the aerosol mass balance of the urban atmospheric aerosol, *Atmos. Environ.*, 42, 5542–5549, 2008b.
- Belis, C. A., Favez, O., Harrison, R. M., Larsen, B. R., Amato, F., El Haddad, I., Hopke, P. K., Nava, S., Paatero, P., Prévôt, A., Quass, U., Vecchi, R., and Viana, M.: European Commission, Joint Research Centre, and Institute for Environment and Sustainability: European guide on air pollution source apportionment with receptor models, Publications office, Luxembourg, available from: <http://dx.publications.europa.eu/10.2788/9307> (last access: 13 March 2019), 2014.
- Birch, M. E. and Cary, R. A.: Elemental carbon-based method for monitoring occupational exposures to particulate diesel exhaust, *Aerosol Sci. Technol.*, 25, 221–241, 1996.
- Boex-Fontvieille, E., Davanture, M., Jossier, M., Zivy, M., Hodges, M., and Tcherkez, G.: Photosynthetic activity influences cellulose biosynthesis and phosphorylation of proteins involved therein in *Arabidopsis* leaves, *J. Exp. Bot.*, 65, 4997–5010, 2014.
- Bonvalot, L., Tuna, T., Fagault, Y., Jaffrezo, J.-L., Jacob, V., Chevrier, F., and Bard, E.: Estimating contributions from biomass burning, fossil fuel combustion, and biogenic carbon to carbonaceous aerosols in the Valley of Chamonix: a dual approach based on radiocarbon and levoglucosan, *Atmos. Chem. Phys.*, 16, 13753–13772, <https://doi.org/10.5194/acp-16-13753-2016>, 2016.
- Boucher, O., Randall, D., Artaxo, P., Bretherton, C., Feingold, G., Forster, P., Kerminen, V.-M., Kondo, Y., Liao, H., and Lohmann, U.: Clouds and aerosols, in *Climate change 2013: the physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Cambridge University Press, 571–657, 2013.
- Burshtein, N., Lang-Yona, N., and Rudich, Y.: Ergosterol, arabinol and mannitol as tracers for biogenic aerosols in the eastern Mediterranean, *Atmos. Chem. Phys.*, 11, 829–839, <https://doi.org/10.5194/acp-11-829-2011>, 2011.
- Calas, A., Uzu, G., Kelly, F. J., Houdier, S., Martins, J. M. F., Thomas, F., Molton, F., Charron, A., Dunster, C., Oliete, A., Jacob, V., Besombes, J.-L., Chevrier, F., and Jaffrezo, J.-L.: Comparison between five acellular oxidative potential measurement assays performed with detailed chemistry on PM₁₀ samples from the city of Chamonix (France), *Atmos. Chem. Phys.*, 18, 7863–7875, <https://doi.org/10.5194/acp-18-7863-2018>, 2018.
- Carvalho, A., Pio, C., and Santos, C.: Water-soluble hydroxylated organic compounds in German and Finnish aerosols, *Atmos. Environ.*, 37, 1775–1783, 2003.
- Cavalli, F., Viana, M., Yttri, K. E., Genberg, J., and Putaud, J.-P.: Toward a standardised thermal-optical protocol for measuring atmospheric organic and elemental carbon: the EUSAAR protocol, *Atmos. Meas. Tech.*, 3, 79–89, <https://doi.org/10.5194/amt-3-79-2010>, 2010.
- Chevrier, F.: Chauffage au bois et qualité de l'air en Vallée de l'Arve?: définition d'un système de surveillance et impact d'une politique de rénovation du parc des appareils anciens, PhD thesis, Université Grenoble Alpes, 23 November, available from: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01527559/document> (last access: 13 March 2019), 2017.
- China, S., Wang, B., Weis, J., Rizzo, L., Brito, J., Cirino, G. G., Kovarik, L., Artaxo, P., Gilles, M. K., and Laskin, A.: Rupturing of biological spores as a source of secondary particles in amazonia, *Environ. Sci. Technol.*, 50, 12179–12186, 2016.
- Cho, A. K., Sioutas, C., Miguel, A. H., Kumagai, Y., Schmitz, D. A., Singh, M., Eiguren-Fernandez, A., and Froines, J. R.: Redox activity of airborne particulate matter at different sites in the Los Angeles Basin, *Environ. Res.*, 99, 40–47, 2005.
- Després, V. R., Alex Huffman, J., Burrows, S. M., Hoose, C., Safatov, A. S., Buryak, G., Fröhlich-Nowoisky, J., Elbert, W., Andreae, M. O., Pöschl, U., and Jaenicke, R.: Primary biological aerosol particles in the atmosphere: a review, *Tellus B*, 64, 15598, <https://doi.org/10.3402/tellusb.v64i0.15598>, 2012.
- Di Filippo, P., Pomata, D., Riccardi, C., Buiarelli, F., and Perrino, C.: Fungal contribution to size-segregated aerosol measured through biomarkers, *Atmos. Environ.*, 64, 132–140, 2013.
- Elbert, W., Taylor, P. E., Andreae, M. O., and Pöschl, U.: Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: wet and dry discharged spores, carbohydrates, and inorganic ions, *Atmos. Chem. Phys.*, 7, 4569–4588, <https://doi.org/10.5194/acp-7-4569-2007>, 2007.
- Favez, O., El Haddad, I., Piot, C., Boréave, A., Abidi, E., Marchand, N., Jaffrezo, J.-L., Besombes, J.-L., Personnaz, M.-B., Sciare, J., Wortham, H., George, C., and D'Anna, B.: Inter-comparison of source apportionment models for the estimation of wood burning aerosols during wintertime in an Alpine city (Grenoble, France), *Atmos. Chem. Phys.*, 10, 5295–5314, <https://doi.org/10.5194/acp-10-5295-2010>, 2010.
- Favez, O., Salameh, D., and Jaffrezo, J.-L.: Traitement harmonisé de jeux de données multi-sites pour l'étude de sources de PM par Positive Matrix Factorization (PMF) – LCSQA, available from: https://www.lcsqa.org/system/files/rapport/lcsqa2016-traitement_harmonise_etude_sources_pmf.pdf (last access: 13 March 2019), 2016.
- Forbes, M. S., Raison, R. J., and Skjemstad, J. O.: Formation, transformation and transport of black carbon (charcoal) in terrestrial and aquatic ecosystems, *Sci. Total Environ.*, 370, 190–206, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.06.007>, 2006.
- Fortenberry, C. F., Walker, M. J., Zhang, Y., Mitroo, D., Brune, W. H., and Williams, B. J.: Bulk and molecular-level characterization of laboratory-aged biomass burning organic aerosol from oak leaf and heartwood fuels, *Atmos. Chem. Phys.*, 18, 2199–2224, <https://doi.org/10.5194/acp-18-2199-2018>, 2018.
- Franke, V., Zieger, P., Wideqvist, U., Acosta Navarro, J. C., Leck, C., Tunved, P., Rosati, B., Gysel, M., Salter, M. E., and Ström, J.: Chemical composition and source analysis of carbonaceous aerosol particles at a mountaintop site in central Sweden, *Tellus B*, 69, 1353387, <https://doi.org/10.1080/16000889.2017.1353387>, 2017.
- Fraser, M. P.: Final Report, Using carbohydrates as molecular markers to determine the contribution of agricultural soil to ambient fine and coarse PM, Research Project Database, Grantee Research Project, ORD, USEPA, 2010.
- Fröhlich-Nowoisky, J., Kampf, C. J., Weber, B., Huffman, J. A., Pöhlker, C., Andreae, M. O., Lang-Yona, N., Burrows, S. M., Gunthe, S. S., Elbert, W., Su, H., Hoor, P., Thines, E., Hoffmann, T., Després, V. R., and Pöschl, U.: Bioaerosols in the Earth system: Climate, health, and ecosystem interactions, *Atmos. Res.*, 182, 346–376, 2016.

- Fu, P., Kawamura, K., Kobayashi, M., and Simoneit, B. R. T.: Seasonal variations of sugars in atmospheric particulate matter from Gosan, Jeju Island: Significant contributions of airborne pollen and Asian dust in spring, *Atmos. Environ.*, 55, 234–239, 2012.
- Fu, P. Q., Kawamura, K., Chen, J., Charrière, B., and Sempéré, R.: Organic molecular composition of marine aerosols over the Arctic Ocean in summer: contributions of primary emission and secondary aerosol formation, *Biogeosciences*, 10, 653–667, <https://doi.org/10.5194/bg-10-653-2013>, 2013.
- Fuzzi, S., Andreae, M. O., Huebert, B. J., Kulmala, M., Bond, T. C., Boy, M., Doherty, S. J., Guenther, A., Kanakidou, M., Kawamura, K., Kerminen, V.-M., Lohmann, U., Russell, L. M., and Pöschl, U.: Critical assessment of the current state of scientific knowledge, terminology, and research needs concerning the role of organic aerosols in the atmosphere, climate, and global change, *Atmos. Chem. Phys.*, 6, 2017–2038, <https://doi.org/10.5194/acp-6-2017-2006>, 2006.
- Fuzzi, S., Decesari, S., Facchini, M. C., Cavalli, F., Emblico, L., Mircea, M., Andreae, M. O., Trebs, I., Hoffer, A., Guyon, P., Artaxo, P., Rizzo, L. V., Lara, L. L., Pauliquevis, T., Maenhaut, W., Raes, N., Chi, X., Mayol-Bracero, O. L., Soto-García, L. L., Claeys, M., Kourtchev, I., Rissler, J., Swietlicki, E., Tagliavini, E., Schkolnik, G., Falkovich, A. H., Rudich, Y., Fisch, G., and Gatti, L. V.: Overview of the inorganic and organic composition of size-segregated aerosol in Rondônia, Brazil, from the biomass-burning period to the onset of the wet season, *J. Geophys. Res.*, 112, D01201, <https://doi.org/10.1029/2005JD006741>, 2007.
- Golly, B., Waked, A., Weber, S., Samake, A., Jacob, V., Conil, S., Ranganio, J., Chrétien, E., Vagnot, M., Robic, P., Besombes, J.-L., and Jaffrezo, J. L.: Organic markers and OC source apportionment for seasonal variations of PM_{2.5} at 5 rural sites in France, *Atmos. Environ.*, 198, 142–157, 2018.
- Gosselin, M. I., Rathnayake, C. M., Crawford, I., Pöhlker, C., Fröhlich-Nowoisky, J., Schmer, B., Després, V. R., Engling, G., Gallagher, M., Stone, E., Pöschl, U., and Huffman, J. A.: Fluorescent bioaerosol particle, molecular tracer, and fungal spore concentrations during dry and rainy periods in a semi-arid forest, *Atmos. Chem. Phys.*, 16, 15165–15184, <https://doi.org/10.5194/acp-16-15165-2016>, 2016.
- Graham, B., Guyon, P., Taylor, P. E., Artaxo, P., Maenhaut, W., Glovsky, M. M., Flagan, R. C., and Andreae, M. O.: Organic compounds present in the natural Amazonian aerosol: Characterization by gas chromatography-mass spectrometry: Organic compounds in Amazonian aerosols, *J. Geophys. Res.-Atmos.*, 108, 4766, <https://doi.org/10.1029/2003JD003990>, 2003.
- Hammes, K., Schmidt, M. W. I., Smernik, R. J., Currie, L. A., Ball, W. P., Nguyen, T. H., Louchouart, P., Houel, S., Gustafsson, Ö., Elmquist, M., Cornelissen, G., Skjemstad, J. O., Masiello, C. A., Song, J., Peng, P., Mitra, S., Dunn, J. C., Hatcher, P. G., Hockaday, W. C., Smith, D. M., Hartkopf-Fröder, C., Böhrer, A., Luer, B., Huebert, B. J., Amelung, W., Brodowski, S., Huang, L., Zhang, W., Gschwend, P. M., Flores-Cervantes, D. X., Largeau, C., Rouzaud, J.-N., Rumpel, C., Guggenberger, G., Kaiser, K., Rodionov, A., Gonzalez-Vila, F. J., Gonzalez-Perez, J. A., de la Rosa, J. M., Manning, D. A. C., López-Capel, E., and Ding, L.: Comparison of quantification methods to measure fire-derived (black/elemental) carbon in soils and sediments using reference materials from soil, water, sediment and the atmosphere, *Global Biogeochem. Cy.*, 21, GB3016, <https://doi.org/10.1029/2006GB002914>, 2007.
- Heald, C. L. and Spracklen, D. V.: Atmospheric budget of primary biological aerosol particles from fungal spores, *Geophys. Res. Lett.*, 36, L09806, <https://doi.org/10.1029/2009GL037493>, 2009.
- Huffman, J. A., Sinha, B., Garland, R. M., Snee-Pollmann, A., Gunthe, S. S., Artaxo, P., Martin, S. T., Andreae, M. O., and Pöschl, U.: Size distributions and temporal variations of biological aerosol particles in the Amazon rainforest characterized by microscopy and real-time UV-APS fluorescence techniques during AMAZE-08, *Atmos. Chem. Phys.*, 12, 11997–12019, <https://doi.org/10.5194/acp-12-11997-2012>, 2012.
- Jaenicke, R.: Abundance of cellular material and proteins in the atmosphere, *Science*, 308, 73–73, <https://doi.org/10.1126/science.1106335>, 2005.
- Jennings, D. B., Ehrenshaft, M., Pharr, D. M., and Williamson, J. D.: Roles for mannitol and mannitol dehydrogenase in active oxygen-mediated plant defense, *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 51129–51133, 1998.
- Jia, Y. and Fraser, M.: Characterization of Saccharides in Size-fractionated Ambient Particulate Matter and Aerosol Sources: The contribution of primary biological aerosol particles (PBAPs) and soil to ambient particulate matter, *Environ. Sci. Technol.*, 45, 930–936, 2011.
- Jia, Y., Bhat, S., and Fraser, M. P.: Characterization of saccharides and other organic compounds in fine particles and the use of saccharides to track primary biologically derived carbon sources, *Atmos. Environ.*, 44, 724–732, 2010a.
- Jia, Y., Clements, A. L., and Fraser, M. P.: Saccharide composition in atmospheric particulate matter in the southwest US and estimates of source contributions, *J. Aerosol Sci.*, 41, 62–73, 2010b.
- Jones, A. M. and Harrison, R. M.: The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations – a review, *Sci. Total Environ.*, 326, 151–180, 2004.
- Kang, M., Fu, P., Kawamura, K., Yang, F., Zhang, H., Zang, Z., Ren, H., Ren, L., Zhao, Y., Sun, Y., and Wang, Z.: Characterization of biogenic primary and secondary organic aerosols in the marine atmosphere over the East China Sea, *Atmos. Chem. Phys.*, 18, 13947–13967, <https://doi.org/10.5194/acp-18-13947-2018>, 2018.
- Li, Y.-C., Shu, M., Ho, S. S. H., Yu, J.-Z., Yuan, Z.-B., Wang, X.-X., Zhao, X.-Q., and Liu, Z.-F.: Effects of chemical composition of PM_{2.5} on visibility in a semi-rural city of Sichuan basin, *Aerosol Air Qual. Res.*, 18, 957–968, 2018.
- Liang, L., Engling, G., Du, Z., Cheng, Y., Duan, F., Liu, X., and He, K.: Seasonal variations and source estimation of saccharides in atmospheric particulate matter in Beijing, China, *Chemosphere*, 150, 365–377, 2016.
- Liang, L., Engling, G., Du, Z., Duan, F., Cheng, Y., Liu, X., and He, K.: Contribution of fungal spores to organic carbon in ambient aerosols in Beijing, China, *Atmos. Pollut. Res.*, 8, 351–358, 2017.
- Manninen, H. E., Bäck, J., Sihto-Nissilä, S.-L., Huffman, J. A., Pessi, A.-M., Hiltunen, V., Aalto, P. P., Hidalgo Fernández, P. J., Hari, P., Saarto, A., Kulmala, M., and Petäjä, T.: Patterns in airborne pollen and other primary biological aerosol particles (PBAP), and their contribution to aerosol mass and number in a boreal forest, *Boreal Environ. Res.*, 19, 383–405, 2014.

- Medeiros, P. M., Conte, M. H., Weber, J. C., and Simoneit, B. R. T.: Sugars as source indicators of biogenic organic carbon in aerosols collected above the Howland Experimental Forest, Maine, *Atmos. Environ.*, 40, 1694–1705, 2006.
- Morris, C. E., Sands, D. C., Bardin, M., Jaenicke, R., Vogel, B., Leyronas, C., Ariya, P. A., and Psenner, R.: Microbiology and atmospheric processes: research challenges concerning the impact of airborne micro-organisms on the atmosphere and climate, *Biogeosciences*, 8, 17–25, <https://doi.org/10.5194/bg-8-17-2011>, 2011.
- Nozière, B., Kalberer, M., Claeys, M., Allan, J., D'Anna, B., Decesari, S., Finessi, E., Glasius, M., Grgić, I., Hamilton, J. F., Hoffmann, T., Iinuma, Y., Jaoui, M., Kahnt, A., Kampf, C. J., Kourtchev, I., Maenhaut, W., Marsden, N., Saarikoski, S., Schnelle-Kreis, J., Surratt, J. D., Szidat, S., Szmigielski, R., and Wisthaler, A.: The molecular identification of organic compounds in the atmosphere: state of the art and challenges, *Chem. Rev.*, 115, 3919–3983, <https://doi.org/10.1021/cr5003485>, 2015.
- Ntziachristos, L., Froines, J. R., Cho, A. K., and Sioutas, C.: Relationship between redox activity and chemical speciation of size-fractionated particulate matter, *Part. Fibre Toxicol.*, 4, 5, <https://doi.org/10.1186/1743-8977-4-5>, 2007.
- Paatero, P., Eberly, S., Brown, S. G., and Norris, G. A.: Methods for estimating uncertainty in factor analytic solutions, *Atmos. Meas. Tech.*, 7, 781–797, <https://doi.org/10.5194/amt-7-781-2014>, 2014.
- Pashynska, V., Vermeylen, R., Vas, G., Maenhaut, W., and Claeys, M.: Development of a gas chromatographic/ion trap mass spectrometric method for the determination of levoglucosan and saccharidic compounds in atmospheric aerosols, Application to urban aerosols, *J. Mass Spectrom.*, 37, 1249–1257, <https://doi.org/10.1002/jms.391>, 2002.
- Petit, J.-E., Favez, O., Sciare, J., Crenn, V., Sarda-Estève, R., Bonnaire, N., Močnik, G., Dupont, J.-C., Haeffelin, M., and Leoz-Garziandia, E.: Two years of near real-time chemical composition of submicron aerosols in the region of Paris using an Aerosol Chemical Speciation Monitor (ACSM) and a multi-wavelength Aethalometer, *Atmos. Chem. Phys.*, 15, 2985–3005, <https://doi.org/10.5194/acp-15-2985-2015>, 2015.
- Petrogrande, M. C., Bacco, D., Visentin, M., Ferrari, S., and Casali, P.: Polar organic marker compounds in atmospheric aerosol in the Po Valley during the Supersito campaigns – Part 2: Seasonal variations of sugars, *Atmos. Environ.*, 97, 215–225, 2014.
- Pio, C. A., Legrand, M., Alves, C. A., Oliveira, T., Afonso, J., Caeseiro, A., Puxbaum, H., Sanchez-Ochoa, A., and Gelencsér, A.: Chemical composition of atmospheric aerosols during the 2003 summer intense forest fire period, *Atmos. Environ.*, 42, 7530–7543, <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.05.032>, 2008.
- Putaud, J.-P., Raes, F., Van Dingenen, R., Brüggemann, E., Facchini, M.-C., Decesari, S., Fuzzi, S., Gehrig, R., Hüglin, C., Laj, P., Lorbeer, G., Maenhaut, W., Mihalopoulos, N., Müller, K., Querol, X., Rodriguez, S., Schneider, J., Spindler, G., Brink, H. T., Tørseth, K., and Wiedensohler, A.: A European aerosol phenomenology 2: chemical characteristics of particulate matter at kerbside, urban, rural and background sites in Europe, *Atmos. Environ.*, 38, 2579–2595, 2004a.
- Putaud, J.-P., Dingenen, R. V., Dell'Acqua, A., Raes, F., Matta, E., Decesari, S., Facchini, M. C., and Fuzzi, S.: Size-segregated aerosol mass closure and chemical composition in Monte Cimone (I) during MINATROC, *Atmos. Chem. Phys.*, 4, 889–902, <https://doi.org/10.5194/acp-4-889-2004>, 2004b.
- Putaud, J.-P., Van Dingenen, R., Alastuey, A., Bauer, H., Birmili, W., Cyrys, J., Flentje, H., Fuzzi, S., Gehrig, R., Hansson, H. C., Harrison, R. M., Herrmann, H., Hitztenberger, R., Hüglin, C., Jones, A. M., Kasper-Giebl, A., Kiss, G., Kousa, A., Kuhlbusch, T. A. J., Löschau, G., Maenhaut, W., Molnar, A., Moreno, T., Pekkanen, J., Perrino, C., Pitz, M., Puxbaum, H., Querol, X., Rodriguez, S., Salma, I., Schwarz, J., Smolik, J., Schneider, J., Spindler, G., ten Brink, H., Tursic, J., Viana, M., Wiedensohler, A., and Raes, F.: A European aerosol phenomenology – 3: Physical and chemical characteristics of particulate matter from 60 rural, urban, and kerbside sites across Europe, *Atmos. Environ.*, 44, 1308–1320, 2010.
- Puxbaum, H. and Tenze-Kunit, M.: Size distribution and seasonal variation of atmospheric cellulose, *Atmos. Environ.*, 37, 3693–3699, 2003.
- Rathnayake, C. M., Metwali, N., Jayarathne, T., Kettler, J., Huang, Y., Thorne, P. S., O'Shaughnessy, P. T., and Stone, E. A.: Influence of rain on the abundance of bioaerosols in fine and coarse particles, *Atmos. Chem. Phys.*, 17, 2459–2475, <https://doi.org/10.5194/acp-17-2459-2017>, 2017.
- Ruijter, G. J. G., Bax, M., Patel, H., Flitter, S. J., Vondervoort, P. J. I. van de, Vries, R. P. de, van Kuyk, P. A., and Visser, J.: Mannitol is required for stress tolerance in *Aspergillus niger* aonidiospores, *Eukaryot. Cell*, 2, 690–698, <https://doi.org/10.1128/EC.2.4.690-698.2003>, 2003.
- Ruthenburg, T. C., Perlin, P. C., Liu, V., McDade, C. E., and Dillner, A. M.: Determination of organic matter and organic matter to organic carbon ratios by infrared spectroscopy with application to selected sites in the IMPROVE network, *Atmos. Environ.*, 86, 47–57, 2014.
- Sandradewi, J., Prévôt, A. S. H., Szidat, S., Perron, N., Alfarra, M. R., Lanz, V. A., Weingartner, E., and Baltensperger, U.: Using aerosol light absorption measurements for the quantitative determination of wood burning and traffic emission contributions to particulate matter, *Environ. Sci. Technol.*, 42, 3316–3323, 2008.
- Seinfeld, J. H. and Pandis, S. N.: *Atmospheric Chemistry and Physics: From Air Pollution to Climate Change*, 1st edn., Wiley-Interscience, New York, 1997.
- Simoneit, B. R. T., Kobayashi, M., Mochida, M., Kawamura, K., Lee, M., Lim, H. J., Turpin, B. J., and Komazaki, Y.: Composition and major sources of organic compounds of aerosol particulate matter sampled during the ACE-Asia campaign, *J. Geophys. Res.*, 109, D19S10, <https://doi.org/10.1029/2004JD004598>, 2004a.
- Simoneit, B. R. T., Elias, V. O., Kobayashi, M., Kawamura, K., Rushdi, A. I., Medeiros, P. M., Rogge, W. F., and Didyk, B. M.: Sugars dominant water-soluble organic compounds in soils and characterization as tracers in atmospheric particulate matter, *Environ. Sci. Technol.*, 38, 5939–5949, 2004b.
- Srithawirat, T. and Brimblecombe, P.: Seasonal variation of saccharides and furfural in atmospheric aerosols at a semi-urban site, *Aerosol Air Qual. Res.*, 15, 2277–2290, 2015.
- Srivastava, D., Tomaz, S., Favez, O., Lanzafame, G. M., Golly, B., Besombes, J.-L., Alleman, L. Y., Jaffrezo, J.-L., Jacob, V., Perraudin, E., Villenave, E., and Albinet, A.: Speciation of organic fraction does matter for source apportionment. Part 1: A one-year

3374

- campaign in Grenoble (France), *Sci. Total Environ.*, 624, 1598–1611, 2018.
- Theodosi, C., Panagiotopoulos, C., Nouara, A., Zarpas, P., Nicolaou, P., Violaki, K., Kanakidou, M., Sempéré, R., and Mihalopoulos, N.: Sugars in atmospheric aerosols over the Eastern Mediterranean, *Prog. Oceanogr.*, 163, 70–81, 2018.
- US EPA, O.: Positive Matrix Factorization Model for environmental data analyses, US EPA, available from: <https://www.epa.gov/air-research/positive-matrix-factorization-model-environmental-data-analyses> (last access: 7 September 2017), 2015.
- Véléz, H., Glassbrook, N. J., and Daub, M. E.: Mannitol metabolism in the phytopathogenic fungus *Alternaria alternata*, *Fungal Genet. Biol.*, 44, 258–268, 2007.
- Verma, S. K., Kawamura, K., Chen, J., and Fu, P.: Thirteen years of observations on primary sugars and sugar alcohols over remote Chichijima Island in the western North Pacific, *Atmos. Chem. Phys.*, 18, 81–101, <https://doi.org/10.5194/acp-18-81-2018>, 2018.
- Vlachou, A., Daellenbach, K. R., Bozzetti, C., Chazéau, B., Salazar, G. A., Szidat, S., Jaffrezo, J.-L., Hueglin, C., Baltensperger, U., Haddad, I. E., and Prévôt, A. S. H.: Advanced source apportionment of carbonaceous aerosols by coupling offline AMS and radiocarbon size-segregated measurements over a nearly 2-year period, *Atmos. Chem. Phys.*, 18, 6187–6206, <https://doi.org/10.5194/acp-18-6187-2018>, 2018.
- Waked, A., Favez, O., Alleman, L. Y., Piot, C., Petit, J.-E., Delaunay, T., Verlinden, E., Golly, B., Besombes, J.-L., Jaffrezo, J.-L., and Leoz-Garziandia, E.: Source apportionment of PM₁₀ in a north-western Europe regional urban background site (Lens, France) using positive matrix factorization and including primary biogenic emissions, *Atmos. Chem. Phys.*, 14, 3325–3346, <https://doi.org/10.5194/acp-14-3325-2014>, 2014.
- Yang, Y., Chan, C., Tao, J., Lin, M., Engling, G., Zhang, Z., Zhang, T., and Su, L.: Observation of elevated fungal tracers due to biomass burning in the Sichuan Basin at Chengdu City, China, *Sci. Total Environ.*, 431, 68–77, 2012.
- Yttri, K. E., Aas, W., Bjerke, A., Cape, J. N., Cavalli, F., Ceburnis, D., Dye, C., Emblico, L., Facchini, M. C., Forster, C., Hanssen, J. E., Hansson, H. C., Jennings, S. G., Maenhaut, W., Putaud, J. P., and Tørseth, K.: Elemental and organic carbon in PM₁₀: a one year measurement campaign within the European Monitoring and Evaluation Programme EMEP, *Atmos. Chem. Phys.*, 7, 5711–5725, <https://doi.org/10.5194/acp-7-5711-2007>, 2007a.
- Yttri, K. E., Dye, C., and Kiss, G.: Ambient aerosol concentrations of sugars and sugar-alcohols at four different sites in Norway, *Atmos. Chem. Phys.*, 7, 4267–4279, <https://doi.org/10.5194/acp-7-4267-2007>, 2007b.
- Yttri, K. E., Simpson, D., Stenström, K., Puxbaum, H., and Svendby, T.: Source apportionment of the carbonaceous aerosol in Norway – quantitative estimates based on ¹⁴C, thermal-optical and organic tracer analysis, *Atmos. Chem. Phys.*, 11, 9375–9394, <https://doi.org/10.5194/acp-11-9375-2011>, 2011.
- Wang, X., Shen, Z., Liu, F., Lu, D., Tao, J., Lei, Y., Zhang, Q., Zeng, Y., Xu, H., Wu, Y., Zhang, R., and Cao, J.: Saccharides in summer and winter PM_{2.5} over Xi'an, Northwestern China: Sources, and yearly variations of biomass burning contribution to PM_{2.5}, *Atmos. Res.*, 214, 410–417, 2018.
- Zhan, C., Zhang, J., Cao, J., Han, Y., Wang, P., Zheng, J., Yao, R., Liu, H., Li, H., and Xiao, W.: Characteristics and sources of black carbon in atmospheric dustfall particles from Huangshi, China, *Aerosol Air Qual. Res.*, 16, 2096–2106, <https://doi.org/10.4209/aaqr.2015.09.0562>, 2016.
- Zhang, T., Engling, G., Chan, C.-Y., Zhang, Y.-N., Zhang, Z.-S., Lin, M., Sang, X.-F., Li, Y. D., and Li, Y.-S.: Contribution of fungal spores to particulate matter in a tropical rainforest, *Environ. Res. Lett.*, 5, 24010, <https://doi.org/10.1088/1748-9326/5/2/024010>, 2010.
- Zhang, Z., Engling, G., Zhang, L., Kawamura, K., Yang, Y., Tao, J., Zhang, R., Chan, C., and Li, Y.: Significant influence of fungi on coarse carbonaceous and potassium aerosols in a tropical rainforest, *Environ. Res. Lett.*, 10, 34015, <https://doi.org/10.1088/1748-9326/10/3/034015>, 2015.
- Zhu, C., Kawamura, K., and Kunwar, B.: Organic tracers of primary biological aerosol particles at subtropical Okinawa Island in the western North Pacific Rim: Organic biomarkers in the North Pacific, *J. Geophys. Res.-Atmos.*, 120, 5504–5523, 2015.
- Zhu, C., Kawamura, K., Fukuda, Y., Mochida, M., and Iwamoto, Y.: Fungal spores overwhelm biogenic organic aerosols in a midlatitudinal forest, *Atmos. Chem. Phys.*, 16, 7497–7506, <https://doi.org/10.5194/acp-16-7497-2016>, 2016.

Supplementary information:

Table SI-1: Characteristics of sampling sites (including altitude, site typology) and number of analyzed samples.

Sampling site	Altitude (m)	PM fraction	AASQA* in charge of sampling sites	Number of Samples	Sugar compounds analyzed by	PMF analysis	Typology
OPE-ANDRA	293	PM ₁₀	OPE-ANDRA	266	IGE		Rural
OPE-ANDRA	293	PM _{2.5}	OPE-ANDRA	310	IGE		Rural
Peyrusse Vieille	175	PM ₁₀	ATMO Occitanie	59	IGE		Rural
Revin	395	PM ₁₀	ATMO Grand-Est	168	LSCE	+	Rural
Revin	395	PM _{2.5}	ATMO Grand-Est	162	IGE		Rural
Dieulefit	550	PM _{2.5}	ATMO AuRA	56	IGE		Rural
Verneuil	180	PM _{2.5}	LIG' AIR	60	IGE		Rural
Chamonix	1035	PM ₁₀	ATMO AuRA	120	IGE	+	Urban
Marnaz	504	PM ₁₀	ATMO AuRA	203	IGE	+	Urban
Passy	588	PM ₁₀	ATMO AuRA	344	IGE	+	Urban
Lanslebourg	1400	PM ₁₀	ATMO AuRA	82	IGE		Urban
Grenoble_LF	214	PM ₁₀	ATMO AuRA	714	IGE	+	Urban
Grenoble_CB	212	PM ₁₀	ATMO AuRA	72	IGE		Urban
Grenoble_VIF	310	PM ₁₀	ATMO AuRA	72	IGE		Urban
Gap	743	PM ₁₀	AIR PACA	125	IGE		Urban
Lyon	160	PM ₁₀	ATMO AuRA	172	IGE	+	Urban
Marseille	64	PM ₁₀	AIR PACA	255	IGE	+	Urban
Gardanne	212	PM ₁₀	AIR PACA	88	IGE		Urban
Meyreuil	235	PM ₁₀	AIR PACA	91	IGE		Urban
Mallet	200	PM ₁₀	AIR PACA	96	IGE		Urban
Port-de-Bouc	1	PM ₁₀	AIR PACA	242	IGE	+	Urban
Aix-en-Provence	188	PM ₁₀	AIR PACA	177	IGE	+	Urban
Nice	9	PM ₁₀	AIR PACA	228	IGE	+	Urban
Talence	20	PM ₁₀	ATMO Nouvelle-Aquitaine	159	IGE	+	Urban
Poitiers	0	PM ₁₀	ATMO Nouvelle-Aquitaine	134	IGE	+	Urban
Lens	47	PM ₁₀	ATMO Hauts-de-France	118	IGE	+	Urban
			Hauts-de-France	169	LSCE	+	Urban
Nogent	47	PM ₁₀	ATMO Hauts-de-France	155	LSCE	+	Urban
Rouen	6	PM ₁₀	ATMO Normandie	168	LSCE	+	Urban
Roubaix	10	PM ₁₀	ATMO Hauts-de-France	159	LSCE	+	Traffic
Strasbourg	139	PM ₁₀	ATMO Grand-Est	120	IGE	+	Traffic

*AASQA: Officially-approved French Air Quality Monitoring networks which instrument and maintain the sampling sites, and handle the filters. The AASQA follow the well-defined criteria for the classification (typology) of all sites in France. The description of the monitoring sites can be accessed by clicking on the AASQA designation. Symbol (+) indicates cases where PMF analysis was performed.

*Except PM₁₀ collected at OPE-ANDRA (sampled on weekly basis with low volume sampler operating at a flow rate of 1 m³.h⁻¹), all others PM samples were collected on daily basis, using high volume samplers operating at a flow rate of 30 m³.h⁻¹.

Table SI-2 : Yearly average mass concentrations of polyols and glucose according to the sampling site typologies. Concentration values are expressed in ng.m⁻³.

	All sampling sites	Rural	Urban	Urban in Alp valley environment	Traffic
Polyols	33.2 ± 33.5	34.6 ± 45.4	28.1 ± 28.4	38.7 ± 35.1	24.7 ± 25.0
Glucose	20.4 ± 15.6	21.5 ± 26.8	17.1 ± 16.8	24.2 ± 18.4	13.6 ± 12.6
Polyols-to-OM (%)	0.59 ± 0.69	0.95 ± 0.93	0.52 ± 0.55	0.65 ± 0.75	0.37 ± 0.36

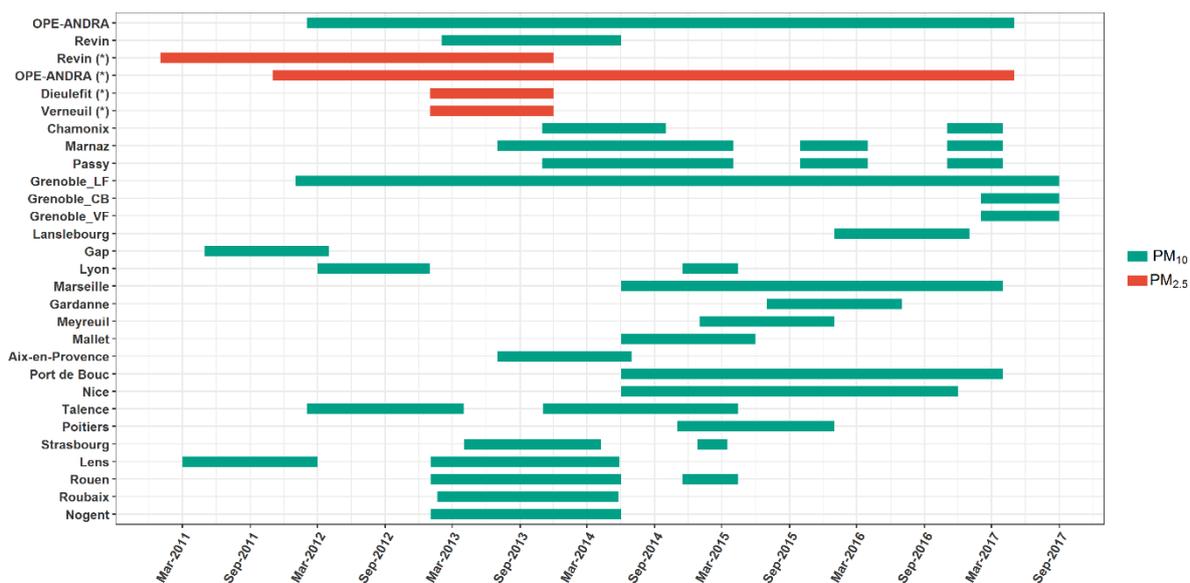


Figure SI-30: Timeline of Particulate matter (PM) sampling campaign periods for each studied site.

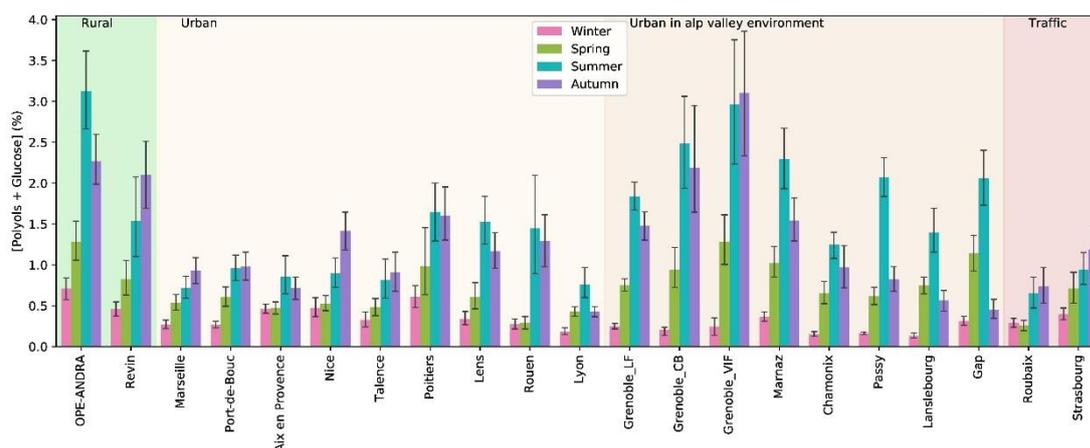


Figure SI-31: Spatial and seasonal average contributions of the sum of dominant polyols (arabitol + mannitol) and glucose to total organic (OM) aerosols at various sites in France.

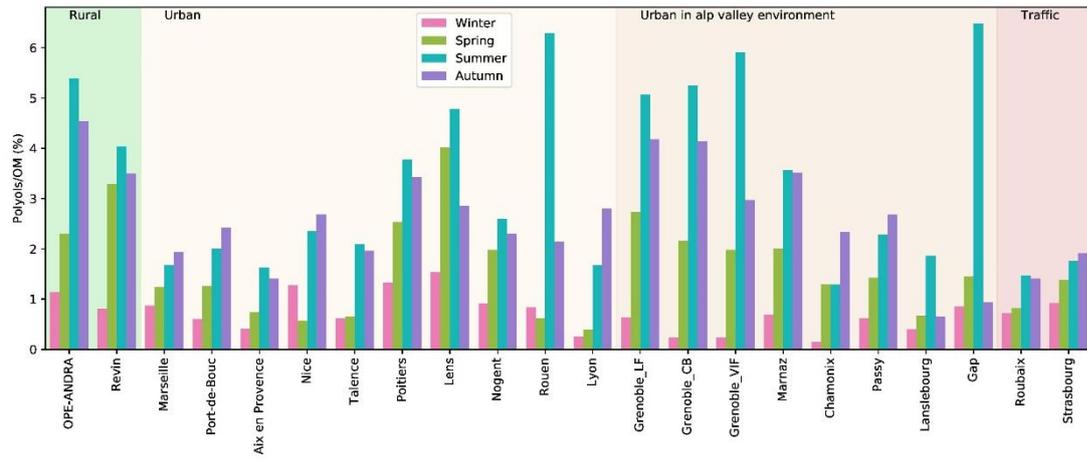


Figure SI-32 : Maximum seasonal contributions of dominant polyols to total organic aerosols (OM) at various sites in France.

Description of the Positive Matrix Factorization (PMF) analyses

PMF model

The PMF (Positive Matrix Factorization) is an algorithm that solves the following equation:

$$X = G \times F + E$$

In the field of atmospheric science, if the X matrix is the concentration of species at a given receptor-site, the G matrix may be interpreted as the contribution of a “source” factor, and the F matrix the chemical profile of this factor. In this study, we use the EPA PMF5 software to solve the PMF problem (US EPA, 2015). We also use the ability of the ME-2 algorithm to add constraints in the selected base solution.

Input matrices

Table SI-3 summarizes the different species used as input in the PMF runs. The uncertainties are given thanks to Gianini et al. (2012):

$$Y = \sqrt{(x \times CV)^2 + (DL)^2 + (x \times a)^2}$$

Where x is the concentrations of species, CV the coefficient of variation, DL is the detection limit and a is a factor accounting for additional sources of errors. OC* refer to the OC mass minus the carbon mass of the organic species considered in the PMF matrix (namely MSA, polyols, levoglucosan, mannosan, hopanes, methoxyphenol). The variables with a weak signal-to-noise ratio ($0.2 < S/N < 2$) were downweighed (3 times their uncertainties) and the ones with $S/N < 0.2$ were discarded. Values lower than the detection limit (DL) were set to $DL/2$ with uncertainties equal to $5/6 \times DL$.

Table SI-3 : Input chemical species and uncertainties in the PMF run.

	Carbonaceous	Water-soluble ions	Organic markers	Metals
Species	OC*, EC ^s , BC _{wb} ^d , BC _{fr} ^d	MSA, Cl ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺	Polyols, Levoglucosan, Mannosan ^s , Methoxyphenol ^d , Hopanes ^d	Al ^s , As, Ba ^s , Cd, Co, Cr ^s , Cs ^s , Cu, Fe, La ^s , Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sb, Se ^s , Sn ^s , Sr, Ti, V ^s , Zr ^s , Zn
Uncertainties	Gianini, et al. (2012)			
factor “a”	0.03	0.05	0.01	0.15

^s: only in the SOURCES research program,

^d: only in the DECOMBIO research program.

Set of constraints

The specific set of constraints is given in the following Table SI-4.

Table SI-4: Summary of the applied specific chemical constraints on source-specific tracers in the PMF factor profiles.

Factor profile	Element	Type	Value
Biomass burning	Levoglucosan	Pull up maximally	(% dQ 0.50)
Biomass burning	Mannosan	Pull up maximally	(% dQ 0.50)
Road traffic	Levoglucosan	Set to 0	0
Road traffic	Mannosan	Set to 0	0
Primary biogenic	Levoglucosan	Set to 0	0
Primary biogenic	Mannosan	Set to 0	0
Primary biogenic	Polyols	Pull up maximally	(% dQ 0.50)
Primary biogenic	EC	Pull down maximally	(% dQ 0.50)
Secondary biogenic	Levoglucosan	Set to 0	0
Secondary biogenic	Mannosan	Set to 0	0
Secondary biogenic	Polyols	Pull down maximally	(% dQ 0.50)
Secondary biogenic	MSA	Pull up maximally	(% dQ 0.50)
Secondary biogenic	EC	Pull down maximally	(% dQ 0.50)
HFO combustion	Levoglucosan	Set to 0	0
HFO combustion	Mannosan	Set to 0	0
HFO combustion	Polyols	Set to 0	0
HFO combustion	MSA	Set to 0	0
Sea-salt	Mg ²⁺ /Na ⁺	Set to Value	0.119 (% dQ 0.50)

Selection of the solutions

The PMF runs for the DECOMBIO and SOURCES projects were performed in the following manner:

- a base run with geochemical factor link to specific sources;
- a base validation thanks to bootstrapping the solution with bootstrap mapping > 70%;
- a constrained run with specific constraints on species tracers of sources;
- and finally, a constrained bootstrapping and displacement validation.

Only the solutions obtained from constrained runs are presented in this study.

The criteria for a valid solution were the recommendations of the Joint Research Community (JRC) report (Belis et al., 2014):

- $Q_{\text{true}}/Q_{\text{robust}} < 1.5$. In this study, the ratio is close to 1 (no outliers issue),
- weighted residual are normal and between ± 4 ,
- evaluation of geochemical meaning of the factors,
- error monitored thanks to bootstrap and displacement.

Overview of source contributions

The source identification was done thanks to specific marker of emission sources, summarized in Table SI-5 and their respective relative contribution in Figure SI-33. Briefly, we observed common

sources all over the regional territory, namely the biomass burning, the road traffic, the sulfate and nitrate rich, the primary biogenic and secondary biogenic factors. We also found local sources such as Industrial at specific sites. Overall, we clearly identified the large influence of biomass burning and road traffic sources as well as the nitrate and sulfate rich factor on a yearly mean contribution. We also noted the presence of the primary biogenic source at each site, with varying proportions (see the main text for detailed discussion).

Table SI-5: Characteristic marker species for identifying PMF factors.

Identified factors	Specific markers
Biomass burning	Levoglucosan, mannosan, K ⁺ , OC, EC
Road traffic	EC, OC, Ba, Cr, Co, Cu, Fe, Mo, Pb, Sb, Sn, Zn
Nitrate rich	NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺
Sulfate rich	SO ₄ ²⁻ , NH ₄ ⁺ , Se, OC
Primary biogenic	Polyols
Secondary biogenic	MSA
Dust	Ca ²⁺ , Al, Ba, Co, Cu, Fe, Mn, Pb, Sr, Ti, Zn
Salt	Na ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Cl ⁻
Aged salt	Na ⁺ , Mg ²⁺ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻
Industrial	As, Cd, Cr, Cs, Co, Ni, Pb, Rb, Se, V, Zn
Heavy fuel oil (HFO)	V, Ni, SO ₄ ²⁻ , EC

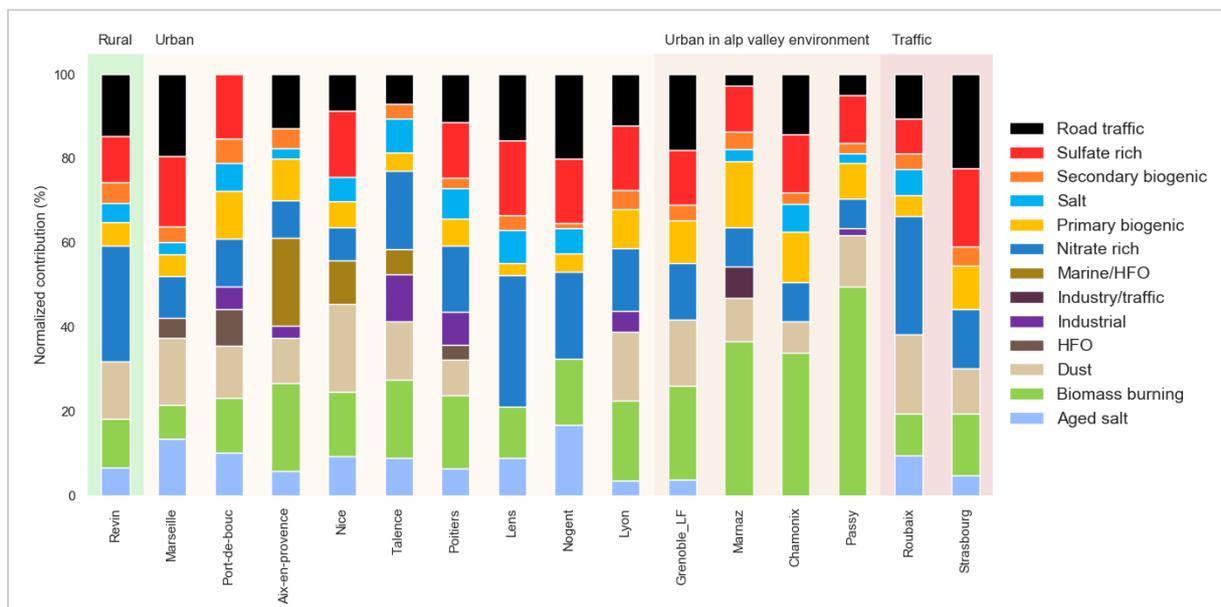


Figure SI-33: Normalized contributions of the different sources to the PM mass found in the DECOMBIO and SOURCES research program for the annual sampling period (HFO: heavy fuel oil).

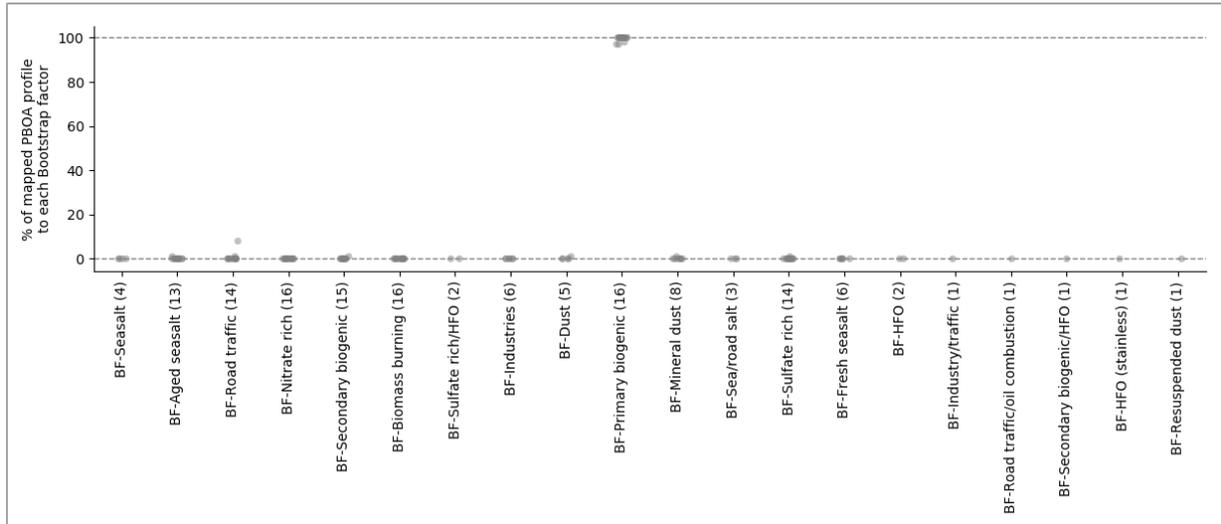


Figure SI-34: Mapping of the PBOA factor in the 16 PMF runs, according to bootstrap analysis ($n=100$ resampled runs). The number in parenthesis indicates the number of site where this factor was identified. BF stands for “Bootstrap factor”.

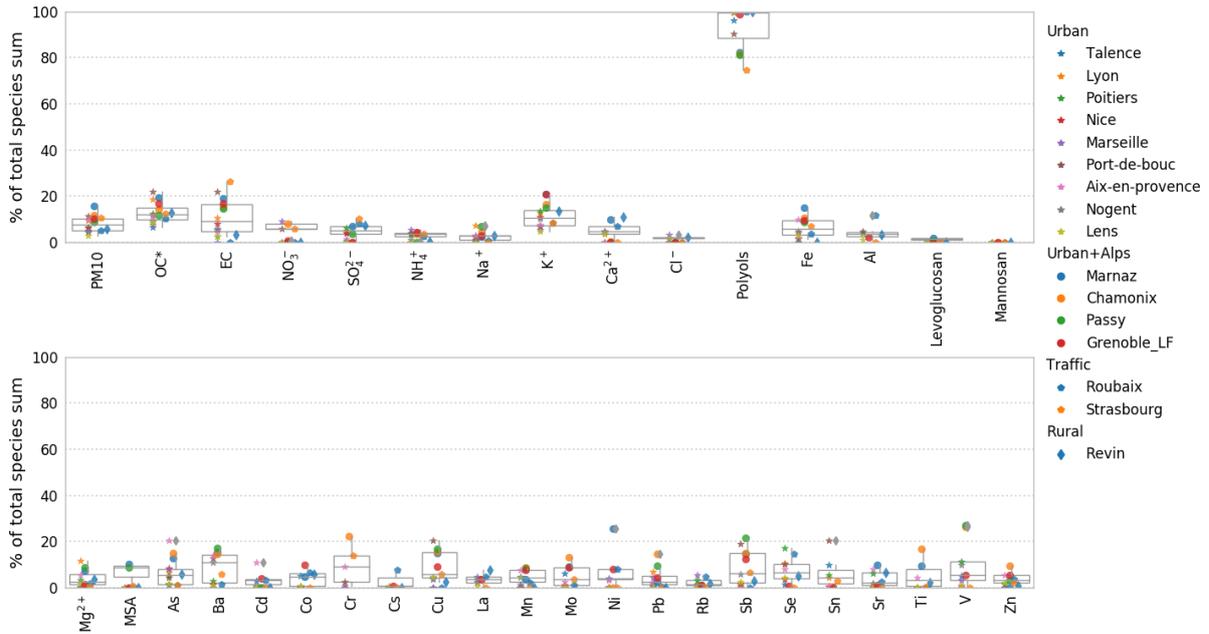


Figure SI-35: Percentage of each species apportioned by the PBOA profile from PMF studies. Values lower than a few $\mu\text{g } \mu\text{g}^{-1}$ are not displayed on purpose. For each boxplot, the top, middle and bottom lines of the box represent the 75th, median and 25th percentile, respectively. The whiskers at the top and bottom of the box extend from the maximum to the minimum.

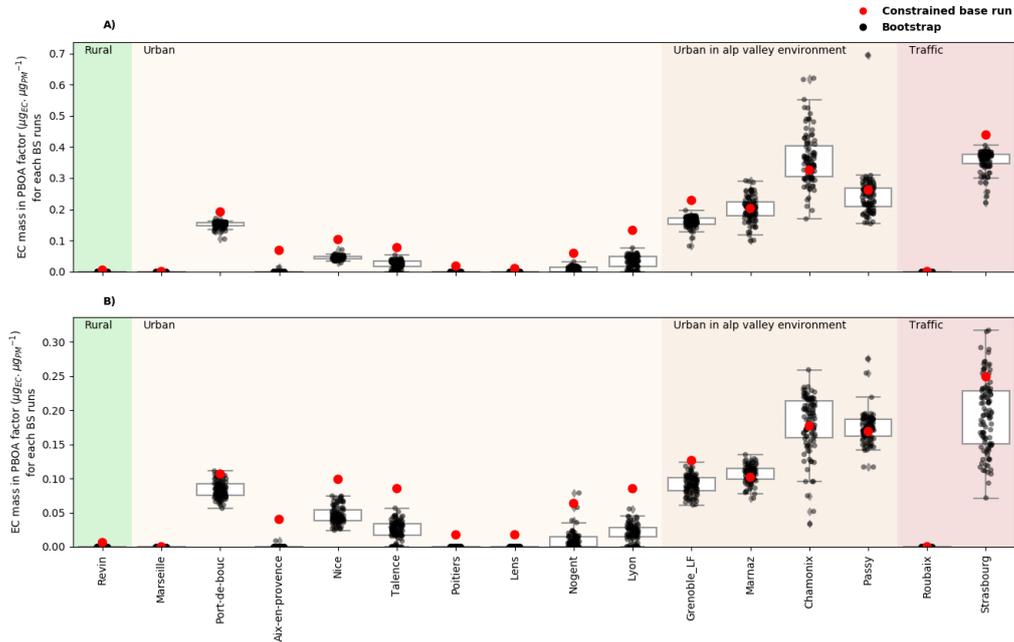


Figure SI-36: Constrained base run value and variability of EC apportioned by the PBOA factor, thanks to bootstrap analysis ($n=100$ resampled runs). The BS stands for “Bootstrap solution”. (A) Yearly average of EC mass apportioned by the PBOA ($\mu\text{g}_{\text{EC}} \cdot \text{m}^{-3}$) and (B) mass-contribution of EC to PBOA mass ($\mu\text{g}_{\text{EC}} \cdot \mu\text{g}_{\text{PMA}}^{-1}$).

Table SI-6: PBOA average factor profile (in fraction of PM mass) identified in the DECOMBIO and SOURCES programs.

Chemical species	Mean (ng μg^{-1})	Standard deviation (ng μg^{-1})
OC*	394	51
EC	81	68
Cl ⁻	3.9	6.8
NO ₃ ⁻	22	49
SO ₄ ²⁻	55	61
Na ⁺	4.6	5.2
NH ₄ ⁺	13	14
K ⁺	9.5	3.2
Mg ²⁺	0.75	0.86
Ca ²⁺	5.6	6.3
MSA	0.12	0.32
Polyols	25	10
Levoglucozan	0.5	1.5
Mannosan	0	0
Fe	9.0	6.2
Al	3.1	2.5
	(pg μg^{-1})	(pg μg^{-1})
As	21	19
Ba	209	153
Cd	1.8	3.2
Co	3.2	4.7
Cr	107	182
Cs	0.6	1.5
Cu	351	298
La	5.4	4.8
Mn	115	130
Mo	11	11
Ni	31	57
Pb	75	80
Rb	7	10
Sb	29	26
Se	45	54
Sn	43	45
Sr	31	36
Ti	64	111
V	32	33
Zn	333	484

OC* corresponds to the bulk organic carbon fraction minus the carbon in the characterized organic species.

References

Belis, C. A., Favez, O., Harrison, R. M., Larsen, B. R., Amato, F., El Haddad, I., Hopke, P. K., Nava, S., Paatero, P., Prévôt, A., Quass, U., Vecchi, R., Viana, M., European Commission, Joint Research Centre., and Institute for Environment and Sustainability: European guide on air pollution source apportionment with receptor models., Publications Office, Luxembourg. [online] Available from: <http://dx.publications.europa.eu/10.2788/9307>, 2014.

Gianini, M. F. D., Fischer, A., Gehrig, R., Ulrich, A., Wichser, A., Piot, C., Besombes, J.-L., and Hueglin, C.: Comparative source apportionment of PM₁₀ in Switzerland for 2008/2009 and 1998/1999 by positive matrix factorisation, *Atmos. Environ.*, 54, 149–158, 2012.

Norris G., Duvall R., Brown S., and Bai S.: EPA positive matrix factorization (PMF) 5.0 fundamentals and user guide, US EPA [online] Available from https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-02/documents/pmf_5.0_user_guide.pdf, 2015.

Article 3: Arabitol, mannitol, and glucose as tracers of primary biogenic organic aerosol: the influence of environmental factors on ambient air concentrations and spatial distribution over France.

Atmos. Chem. Phys., 19, 11013–11030, 2019, <https://doi.org/10.5194/acp-19-11013-2019>

Préambule

La première partie du Chapitre 4 a permis d'établir une empreinte chimique et d'estimer de manière robuste la masse des aérosols organiques d'origine biogénique primaire tracée grâce à la présence des polyols majoritaires. Une des constatations fondamentales sur les profils de sources de matière organique particulaire est que les PBOAs constituent une fraction très importante de la masse en MO en moyenne annuelle en France. Cette dernière étude a également permis d'établir une saisonnalité des concentrations des traceurs moléculaires les plus pertinents des PBOAs marqueurs moléculaires pertinents. A notre connaissance, il s'agit de la première fois qu'une telle approche générale multi-sites est appliquée sur de séries (multi)annuelles de sucres primaires dans PM₁₀. Ce qui permet d'avoir une vision complète sur les variabilités temporelles et spatiales associées aux PBOAs pour plusieurs typologies de site et conditions (géo)climatiques typiquement rencontrées en France.

L'ensemble des résultats présentés dans les précédents chapitres apporte alors une vision robuste sur l'origine géographique principalement continentale des PBOAs et les variabilités temporelles et spatiales de la concentration atmosphérique des sucres primaires (et PBOA). Malgré ce bilan très positif, des interrogations demeurent sur les principales sources et processus dominants d'émission des sucres primaires particuliers dans l'atmosphère. En effet, ces précédents travaux reposent sur des jeux de données à basse résolution temporelle (mensuelles, saisonnières, annuelles), ce qui n'a ni permis d'obtenir des informations complètes sur les processus dominants d'émissions des sucres primaires particuliers vers l'atmosphère ni de caractériser les paramètres environnementaux qui contrôlent les variabilités temporelles et spatiales des niveaux de concentrations atmosphériques des sucres primaires (et PBOAs).

C'est dans ce contexte que s'inscrivent les travaux présentés dans cette deuxième partie du Chapitre 4, avec pour principaux objectifs de progresser dans la compréhension des processus par lesquels ces particules se retrouvent dans l'atmosphère et des paramètres environnementaux clés qui déterminent leurs niveaux de concentrations atmosphériques. La stratégie retenue ici repose sur l'exploitation statistique de longs (à minima annuels) jeux de données journaliers de la chimie des aérosols sur des sites localisés à plusieurs échelles spatiales (allant du locale à nationale). Ce qui a permis de contourner les limites rencontrées dans les précédents chapitres (basse résolution temporelle et/ou spatiale). Le couplage des jeux de données sur les aérosols et sur les paramètres environnementaux (tels que les conditions météorologiques, l'indice de surface foliaire, les pratiques agricoles, etc.) apportera une meilleure compréhension des évolutions temporelles (cycles journaliers, saisonniers, variabilités interannuelles) et spatiales de la concentration sucres primaires (et PBOAs) pour des environnements directement influencés et non par les pratiques agricoles en France. L'étude fine des activités agricoles au cours des épisodes de pics atmosphériques en sucres primaires lors de ces six dernières années apportera une meilleure compréhension des processus dominants d'émissions des sucres primaires dans l'atmosphère pour les sites sous influence agricole.

Les travaux présentés dans cette deuxième partie Chapitre 4 sont basés sur un article publié dans le journal « *Atmospheric Chemistry and Physics (ACP)* DOI : [10.5194/acp-19-11013-2019](https://doi.org/10.5194/acp-19-11013-2019) »

Atmos. Chem. Phys., 19, 11013–11030, 2019
 https://doi.org/10.5194/acp-19-11013-2019
 © Author(s) 2019. This work is distributed under
 the Creative Commons Attribution 4.0 License.



Atmospheric
 Chemistry
 and Physics
 Open Access
 EGU

Arabitol, mannitol, and glucose as tracers of primary biogenic organic aerosol: the influence of environmental factors on ambient air concentrations and spatial distribution over France

Abdoulaye Samaké¹, Jean-Luc Jaffrezo¹, Olivier Favez^{2,3}, Samuël Weber¹, Véronique Jacob¹, Trishalee Canete¹, Alexandre Albinet^{2,3}, Aurélie Charron^{1,4}, Véronique Riffault⁵, Esperanza Perdrix⁵, Antoine Waked¹, Benjamin Golly¹, Dalia Salameh^{1,a}, Florie Chevrier^{1,6,13}, Diogo Miguel Oliveira^{2,5}, Jean-Luc Besombes⁶, Jean M. F. Martins¹, Nicolas Bonnaire⁷, Sébastien Conil⁸, Géraldine Guillaud⁹, Boualem Mesbah¹⁰, Benoit Rocq¹¹, Pierre-Yves Robic¹², Agnès Hulin¹³, Sébastien Le Meur¹⁴, Maxence Descheemaeker¹⁵, Eve Chretien¹⁶, Nicolas Marchand¹⁷, and Gaëlle Uzu¹

¹University Grenoble Alpes, CNRS, IRD, INP-G, IGE (UMR 5001), 38000 Grenoble, France

²INERIS, Parc Technologique Alata, BP 2, 60550 Verneuil-en-Halatte, France

³Laboratoire Central de Surveillance de la Qualité de l'Air (LCSQA), 60550 Verneuil-en-Halatte, France

⁴IFSTTAR, 69675 Bron, France

⁵SAGE – Département Sciences de l'Atmosphère et Génie de l'Environnement, IMT Lille Douai, University Lille, 59000 Lille, France

⁶University Savoie Mont-Blanc, LCME, 73000 Chambéry, France

⁷LSCE, UMR CNRS-CEA-UVSQ, 91191 Gif-sur Yvette, France

⁸ANDRA DRD/GES Observatoire Pérenne de l'Environnement, 55290 Bure, France

⁹Atmo Auvergne-Rhône-Alpes, 38400 Grenoble, France

¹⁰Air PACA, 13294 Marseille France

¹¹Atmo Hauts de France, 59000 Lille, France

¹²Atmo Occitanie, 31330 Toulouse, France

¹³Atmo Nouvelle Aquitaine, 33000 Bordeaux, France

¹⁴Atmo Normandie, 76000 Rouen, France

¹⁵Lig'Air, 45590 Saint-Cyr-en-Val, France

¹⁶Atmo Grand Est, 16034 Strasbourg, France

¹⁷University Aix Marseille, LCE (UMR7376), 13331 Marseille, France

^anow at: Airpollution control authority (ACNUSA), 75007 Paris, France

Correspondence: Abdoulaye Samaké (abdoulaye.samake2@univ-grenoble-alpes.fr)
 and Jean-Luc Jaffrezo (Jean-luc.Jaffrezo@univ-grenoble-alpes.fr)

Received: 7 May 2019 – Discussion started: 20 May 2019

Revised: 16 July 2019 – Accepted: 29 July 2019 – Published: 29 August 2019

Abstract. The primary sugar compounds (SCs, defined as glucose, arabitol, and mannitol) are widely recognized as suitable molecular markers to characterize and apportion primary biogenic organic aerosol emission sources. This work improves our understanding of the spatial behavior and distribution of these chemical species and evidences their major effective environmental drivers. We conducted a large study focusing on the daily (24 h) PM₁₀ SC concentrations

for 16 increasing space scale sites (local to nationwide), over at least 1 complete year. These sites are distributed in several French geographic areas of different environmental conditions. Our analyses, mainly based on the examination of the short-term evolutions of SC concentrations, clearly show distance-dependent correlations. SC concentration evolutions are highly synchronous at an urban city scale and remain well correlated throughout the same geographic re-

Published by Copernicus Publications on behalf of the European Geosciences Union.

gions, even if the sites are situated in different cities. However, sampling sites located in two distinct geographic areas are poorly correlated. Such a pattern indicates that the processes responsible for the evolution of the atmospheric SC concentrations present a spatial homogeneity over typical areas of at least tens of kilometers. Local phenomena, such as the resuspension of topsoil and associated microbiota, do not account for the major emissions processes of SC in urban areas not directly influenced by agricultural activities. The concentrations of SC and cellulose display remarkably synchronous temporal evolution cycles at an urban site in Grenoble, indicating a common source ascribed to vegetation. Additionally, higher concentrations of SC at another site located in a crop field region occur during each harvest periods, indicating resuspension processes of plant materials (crop detritus, leaf debris) and associated microbiota for agricultural and nearby urbanized areas. Finally, ambient air temperature, relative humidity, and vegetation density constitute the main effective drivers of SC atmospheric concentrations.

1 Introduction

Primary biogenic organic aerosols (PBOAs), which notably comprise bacterial and fungal cells or spores, viruses, or microbial fragments such as endotoxins and mycotoxins as well as pollens and plant debris, are ubiquitous particles released from the biosphere to the atmosphere (Amato et al., 2017; Fang et al., 2018; Martin et al., 2010; Perrino and Marcovecchio, 2016; Wéry et al., 2017). PBOA can contribute significantly to the total coarse aerosol mass (Amato et al., 2017; Bozzetti et al., 2016; Coz et al., 2010; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Jaenicke, 2005; Manninen et al., 2014; Morris et al., 2011; Samaké et al., 2019; Vlachou et al., 2018; Yue et al., 2017). Besides their expected negative human health effects (Fröhlich-Nowoisky et al., 2009, 2016; Humbal et al., 2018; Lecours et al., 2017; Zamfir et al., 2019), they substantially influence the carbon and water cycles at the global scale, notably acting as cloud and ice nuclei (Ariya et al., 2009; Elbert et al., 2007; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Hill et al., 2017; Humbal et al., 2018; Morris et al., 2014; Rajput et al., 2018). While recent studies have revealed highly relevant information on the abundance and size partitioning of PBOA (Fröhlich-Nowoisky et al., 2017; Huffman and Santarpia, 2017), their emission sources and contribution to total airborne particles are still poorly documented, partly due to the analytical limitations to distinguish PBOA from other types of carbonaceous particulate matter (Bozzetti et al., 2016; China et al., 2018; Di Filippo et al., 2013; Perrino and Marcovecchio, 2016; Yan et al., 2019). Notably, the global emissions of fungal spores emitted into the atmosphere are still poorly constrained and range from 8 to 186 Tg yr⁻¹ (Després et al., 2012; Elbert et al., 2007; Jacob-

son and Streets, 2009; Sesartic and Dall'afior, 2011; Tanarhte et al., 2019).

Recently, source-specific tracer methodologies have been introduced to estimate their contribution to aerosol loadings (Di Filippo et al., 2013; Gosselin et al., 2016; Li et al., 2018; Medeiros et al., 2006b; Verma et al., 2018; Wang et al., 2018). Indeed, atmospheric organic aerosols (OAs) contain specific chemical species that can be used as reliable biomarkers in tracing the sources and abundance of PBOA (Bauer et al., 2008; Gosselin et al., 2016; Holden et al., 2011; Jia et al., 2010; Li et al., 2018; Medeiros et al., 2006b; Wang et al., 2018). For instance, among sugar alcohols, arabitol and mannitol (two common storage soluble carbohydrates in fungi) have been recognized as tracers for airborne fungi, and their concentrations are widely used to estimate PBOA contributions to OA mass (Amato et al., 2017; Bauer et al., 2008; Buiarelli et al., 2013; Golly et al., 2018; Medeiros et al., 2006b; Samaké et al., 2019; Srivastava et al., 2018; Verma et al., 2018; Weber et al., 2018, 2019). Similarly, glucose has also been used as a tracer for plant materials (such as pollen, leaves, and their fragments) or soil emissions within various studies around the world (Chen et al., 2013; Medeiros et al., 2006b; Pietrogrande et al., 2014; Rathnayake et al., 2017; Rogge et al., 2007; Wan et al., 2019; Xiao et al., 2018; Zhu et al., 2015).

In this context, atmospheric concentrations of specific sugar alcohols and/or primary monosaccharides (including glucose) have been previously quantified at sites in several continental, agricultural, coastal, or polar regions (Barbaro et al., 2015; Chen et al., 2013; Glasius et al., 2018; Li et al., 2018; Pietrogrande et al., 2014; Verma et al., 2018; Wan et al., 2019; Yan et al., 2019; Yttri et al., 2007). However, large datasets investigating their (multi)annual cycles and seasonal and simultaneous short-term variations at multiple spatial-scale resolutions (i.e., from local to continental) are still lacking (Liang et al., 2013; Nirmalkar et al., 2018; Pietrogrande et al., 2014; Yan et al., 2019). Such records are essential to better understand the spatial behavior of primary sugar compound (SC) concentrations (i.e., glucose, arabitol, and mannitol) and PBOA emission processes and to isolate their potential key drivers (e.g., vegetation type and density, topography, weather conditions), which are still unclear (Bozzetti et al., 2016). This information would be essential for further implementation into chemical transport models (Heald and Spracklen, 2009; Myriokefalitakis et al., 2017; Tanarhte et al., 2019).

It is commonly acknowledged that SCs (particularly arabitol and mannitol) originate from primary biogenically derived sources such as bacterial, fungal spores, and plant materials (Di Filippo et al., 2013; Golly et al., 2018; Gosselin et al., 2016; Holden et al., 2011; Kang et al., 2018; Medeiros et al., 2006b; Wan et al., 2019; Yan et al., 2019; Yttri et al., 2007; Zhu et al., 2018a). Some studies have characterized the composition of SC in topsoil samples (for fractions larger than PM₁₀) from both natural (i.e., uncultivated) and agri-

cultural regions (Medeiros et al., 2006a; Rogge et al., 2007; Simoneit et al., 2004; Wan and Yu, 2007). The authors suggested that the particulate arabitol, mannitol, and glucose are introduced into the atmosphere mainly through resuspended soils or dust particles and associated biota derived from natural soil erosion, unpaved road dust or agricultural practices. Conversely, Jia and Fraser (2011) reported higher concentrations of SC relative to PBOA in size-segregated aerosol samples collected at a suburban site (Higley, USA) compared to the local size-fractionated soils (equivalent to atmospheric PM_{2.5} and PM₁₀). This suggested that direct emissions from biota (microbiota, vascular plant materials) could also be a significant atmospheric input process for SC at this suburban site.

A large database on SC concentrations was obtained over France in the last decade. It already allowed the investigation of the size distribution and seasonal variabilities of SC concentrations in aerosols at 28 French sites, notably showing that SCs are ubiquitous primary aerosols, accounting for a significant proportion of PM₁₀ organic matter (OM) mass (Samaké et al., 2019). Results confirmed that their ambient concentrations display a well-marked seasonality, with maximum concentrations from late spring to early autumn, followed by an abrupt decrease in late autumns and a minimum concentration during wintertime in France. This study also showed that the mean PBOA chemical profile is largely dominated by organic compounds, with only a minor contribution of dust particle fraction. The latter result indicated that ambient polyols could most likely be associated with direct biological particle emissions (active spore discharge, microbiota released from phylloplane or phyllosphere, etc.) rather than with the microorganism-containing soil resuspension. These observations call for more investigations of the predominant SC (and PBOA) emission sources.

Cellulose, a linear polymer composed of D-glucopyranose units linked by β -1,4 bonds, is the most frequent polysaccharide occurring in terrestrial environments (Ramoni and Seiboth, 2016). Plant materials contain cellulose, which has been reported as a suitable proxy to evaluate the vegetative debris contribution to OM mass (Bozzetti et al., 2016; Daelenbach et al., 2017; Glasius et al., 2018; Hiranuma et al., 2019; Puxbaum and Tenze-Kunit, 2003; Sánchez-Ochoa et al., 2007; Yttri et al., 2011b). The ambient PM₁₀ cellulose has been shown to be abundant in the European semirural or background environments (accounting for 2 % to 10 % of OM mass) (Glasius et al., 2018; Sánchez-Ochoa et al., 2007) and Nordic rural environments in Norway (contributing to 12 % to 18 % of total carbon mass) (Yttri et al., 2011b). Thus, simultaneous concentration measurements of cellulose and SC can provide essential information into their emission source dynamics.

As the continuation of our previous work (Samaké et al., 2019), the present paper aims to delineate the processes that drive the atmospheric concentrations of SC and then PBOA. This is achieved through (i) the analysis of simultaneous an-

nual short-term time series of particulate SC concentrations over pairs of sites across multiple space ranges, including local, regional, and nationwide sites, and (ii) the investigation of links between concentrations and series key parameters such as meteorological and phenological ones. Simultaneous annual short-term concentration measurements of SC and cellulose were performed to better understand their sources correlations.

2 Material and methods

2.1 Sampling sites

Daily PM₁₀ concentrations reported in the present work were obtained from different research and monitoring programs conducted over the last 6 years in France. Within the framework of the present study, we carefully selected sites sharing at least 1 complete year of concurrent monitoring with another one, to be representative of the annual variation cycles. The final dataset includes data from 16 sites, which are distributed in different regions of France (Fig. 1) and cover several main types of environmental conditions in terms of site topography, local vegetation, and climate. The characteristics and data available at each sampling site are listed in Table S1 of the Supplement, together with the information on the annual average concentrations of aerosol chemical composition (Table S2). Detailed information on the sampling conditions can be found in Samaké et al. (2019), such as the campaign periods, number of collected PM samples, sampling flow rates, sample storage and handling, etc. Note that, the previous database (Samaké et al., 2019) has been updated here with arabitol and mannitol in PM₁₀ collected at the suburban site of Nogent-sur-Oise for a series covering the years 2013 to 2017.

2.2 Chemical analyses

Daily (24 h) PM₁₀ samples were collected onto prebaked quartz fiber filters (Tissuquartz PALL QAT-UP 2500 150 mm diameter) every third or sixth day but not concurrently at all sites. They were then analyzed for various chemical species using subsampled fractions of the collection filters and a large array of analytical methods. Details of all the chemical analysis procedures are reported elsewhere (Golly et al., 2018; Samaké et al., 2019; Waked et al., 2014; Weber et al., 2018). Briefly, primary sugar compounds were extracted from filter aliquots (punches typically about 10 cm²) into ultrapure water. The extracts are then filtered using a 0.22 μ m Acrodisc filter. Depending on the site, analyses were conducted either by the IGE (Institut des Géosciences de l'Environnement) or by the LSCE (Laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement) (Samaké et al., 2019). At the IGE, extraction was performed during 20 min in a vortex shaker, and analyses were achieved using high-performance liquid chromatography with pulsed amperomet-

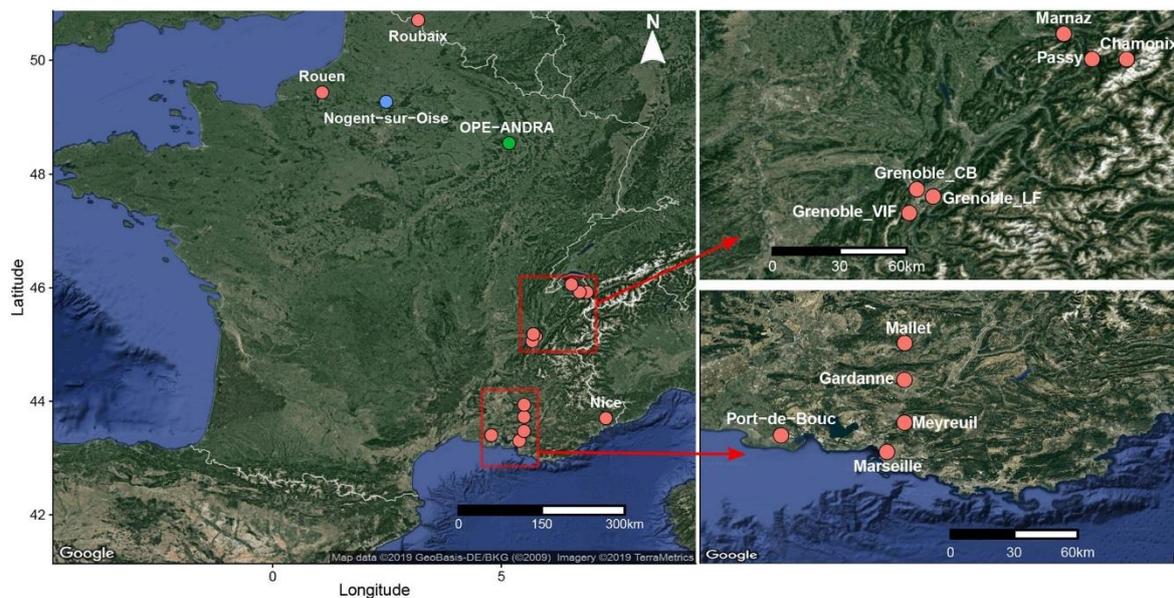


Figure 1. Geographical location of the selected sampling sites. The red and blue dots indicate urban and suburban sites, respectively, while the green one corresponds to a rural site, surrounded by field crop areas.

ric detection (HPLC-PAD). A first set of equipment was used until March 2016, consisting of a Dionex DX500 equipped with a three-column Metrosep (Carb 1-Guard + A Supp 15–150 + Carb 1–150); the analytical program was isocratic with 70 mM sodium hydroxide (NaOH) as an eluent for 11 min, followed by a gradient cleaning step with a 120 mM NaOH as an eluent for 9 min. This procedure allows the analysis of arabitol, mannitol, and glucose (Waked et al., 2014). A second set of equipment was used after March 2016, with a Thermo-Fisher ICS 5000+ HPLC equipped with a 4 mm diameter Metrosep Carb 2 × 150 mm column and a 50 mm pre-column. The analytical run was isocratic with 15 % of an eluent of sodium hydroxide (200 mM) and sodium acetate (4 mM) and 85 % water, at 1 mL min⁻¹. At the LSCE, extraction was performed for 45 min by sonication and analyses were achieved using an ion chromatography instrument (IC, DX600, Dionex) with pulsed amperometric detection (ICS3000, Thermo-Fisher). In addition, a CarboPAC MA1 column was used (4 × 250 mm, Dionex) along with an isocratic analytical run with 480 mM sodium hydroxide eluent. This analytical technique allows us to quantify arabitol, mannitol, and glucose (Srivastava et al., 2018). Examples of standard solution and sample raw HPLC-PAD chromatograms are presented in Fig. S1.

For cellulose quantification, we used an optimized protocol based on that described by Kunit and Puxbaum (1996) and Puxbaum and Tenze-Kunit (2003), in which the cellulose contained in the lignocellulosic material is enzymatically hydrolyzed into glucose units before analysis. Since

the alkaline peroxide pretreatment step used to remove lignin in the original protocol results in a loss of sample material, it has been avoided in this study. Therefore, only the “free cellulose” is reported in our samples. Note that Sánchez-Ochoa et al. (2007) consider that this free cellulose could represent only about 70 % of the total cellulose in air samples and that the total cellulose could represent only about 50 % of the “plant debris” content of atmospheric PM. Very few other results are available on this topic (Bozzetti et al., 2016; Glasius et al., 2018; Vlachou et al., 2018; Yttri et al., 2011b). The protocol has been improved to increase sensitivity and accuracy by reducing the contribution of glucose in the blanks and by using an HPLC-PAD as the analytical method for the determination of glucose concentrations. *Trichoderma reesei* cellulase (> 700 U g⁻¹, Sigma Aldrich) and *Aspergillus niger* glucosidase (> 750 U g⁻¹, Sigma Aldrich) were used as saccharification enzymes. The protocol is detailed in Sect. S2 in the Supplement.

Field blank filters (about 10 % of samples) were handled as real samples for quality assurance. The present data have been corrected from field blanks. The reproducibility of the analysis of primary sugar compounds (polyols, glucose) and cellulose, estimated from the analysis of sample extracts from 10 punches of the same filters, were in the range of 10 %–15 %. The quantification limits of primary sugar compounds and cellulose ranged from 0.63 to 0.89 ng m⁻³. About 2800 samples are considered in this work for the polyols and glucose series, while 290 samples (from the sites of Grenoble_LF and OPE-ANDRA) are considered for the cel-

lulose series. Hereafter, the term “polyols” is used to refer uniquely to the sum of arabitol and mannitol concentrations.

2.3 Meteorological data and leaf area index (LAI) measurements

Ambient weather data were not available at all monitoring sites (see Table S1). In this study, data including daily relative humidity (%), nighttime temperature ($^{\circ}\text{C}$), average and maximum temperatures ($^{\circ}\text{C}$), wind speed (m s^{-1}), solar radiation (W m^{-2}), and rainfall level (mm) for the sites of Marnaz and OPE-ANDRA (Fig. 1), representing different climatic regions and environmental conditions, were obtained from the French meteorological data sharing service system (Météo-France) and ANDRA (French national radioprotective agency, in charge of the OPE-ANDRA site).

The LAI, which is defined as the projected area of leaves over a unit of land, is an important measure of the local vegetation density variation (Heald and Spracklen, 2009; Yan et al., 2016a, b). For this study, we used the MODIS Collection 6 LAI product because it is considered to have the highest quality among all the MODIS LAI products (Yan et al., 2016a, b). The MCD15A3H product uses both Terra and Aqua reflectance observations as inputs to estimate daily LAI at 500 m spatial resolution, and a 4 d composite is calculated to reduce the noise from abiotic factors. Using a 2×2 km grid box around the monitoring site, the local vegetation density variation was retrieved from LP DAAC (<https://lpdaac.usgs.gov/>, last access: 15 March 2019) for the sites of Marnaz, OPE-ANDRA, and Grenoble_LF.

2.4 Data analyses

All the statistical analyses were carried out using the open-source R software (R studio interface, version 3.4.1). Several statistical analyses were performed on the concentrations to identify the spatial patterns of emission sources and the potential parameters of influence as explained below.

The normalized cross-correlation (NCC) test was chosen to examine the potential similarities among the monitoring sites for particulate SC concentrations, in terms of short-term temporal trends (e.g., synchronized periods of increase or decrease, simultaneous fluctuations during specific episodes). The main advantage of NCC over the traditional correlation tests is that it is less sensitive to linear changes in the amplitudes of the two time series compared. Therefore, to reduce the possibility of spurious “anti-correlation” due to highly variable concentration ranges, data were amplitude-normalized prior to correlation analysis. A thorough discussion of the normalized cross-correlation method can be found elsewhere (Bardal and Sætran, 2016; Dai and Zhou, 2017; Eisner et al., 2009; Kaso, 2018; Lainer et al., 2016; Le Pichon et al., 2019). To achieve pair-wise correlation analysis between the sampling sites collected during the same periods, the original raw daily measurements were processed as

follows: starting on identical days for each pairs of sites, the arrangement of the original daily data into consecutive 3 d intervals (or 6 d intervals in the case of OPE-ANDRA) and the calculation of the average concentration values for the middle day were performed. The resultant data were used for correlation analysis between site pairs (Table S3).

Multiple linear regression (MLR) was used to assess the strength of the relationships between atmospheric concentrations of particulate SC and local environmental factors including the daily mean relative humidity, nighttime temperature, average and maximum temperature, wind speed, solar radiation, rain levels, and LAI. Because the LAI is a 4 d composite, daily values of the other variables were rescaled to consecutive 4 d averaged values. The linear regression (linear model or lm) package in R was employed for multiple regression analyses. The concentration data were log-transformed to obtain regression residual distributions as close as possible to the normal Gaussian one (Fig. S2). Stepwise forward selection was used to select the predictors that explain well the temporal variation in SC concentrations at the site of Marnaz.

It should be noted that due to the limited availability of external parameters, the environmental factors driving SC atmospheric levels have been extensively investigated for only two monitoring sites with contrasted characteristics: the urban background site of Marnaz located in an Alpine valley, and the rural OPE-ANDRA site surrounded by field crop areas spreading over several tens of kilometers.

3 Results and discussion

3.1 Example of spatial coherence of the concentrations at different scales

Our previous work (Samaké et al., 2019) showed that particulate polyols and glucose are ubiquitous primary compounds with nonrandom spatial and seasonal variation patterns over France. Here, an inter-site comparison of their short-term concentration evolutions has been carried out at different space scales (from local to national) for the pairs that can be investigated in our database. Figure 2 presents some of these comparisons for three spatial scales (15, 120, and 205 km).

The daily average concentrations of polyols (defined as the sum of arabitol and mannitol) and glucose display highly synchronous evolutionary trends (i.e., homogeneity in the concentrations, the timing of concentration peaks, simultaneity of the daily specific episodes of increase or decrease in concentrations) over three neighboring monitoring sites located 15 km apart in the Grenoble area (Fig. 2a and b). Interestingly, remarkable synchronous patterns both for the short term (near-daily) and longer term (seasonal) still occur for sites located 120 km apart, as exemplified for two sites in Alpine environments (Grenoble and Marnaz) (Fig. 2c and d). However, as shown in Fig. 2e and f, the evolutions of concentrations become quite dissimilar and asynchronous in

11018

A. Samaké et al.: Arabitol, mannitol, and glucose as tracers of primary biogenic organic aerosol

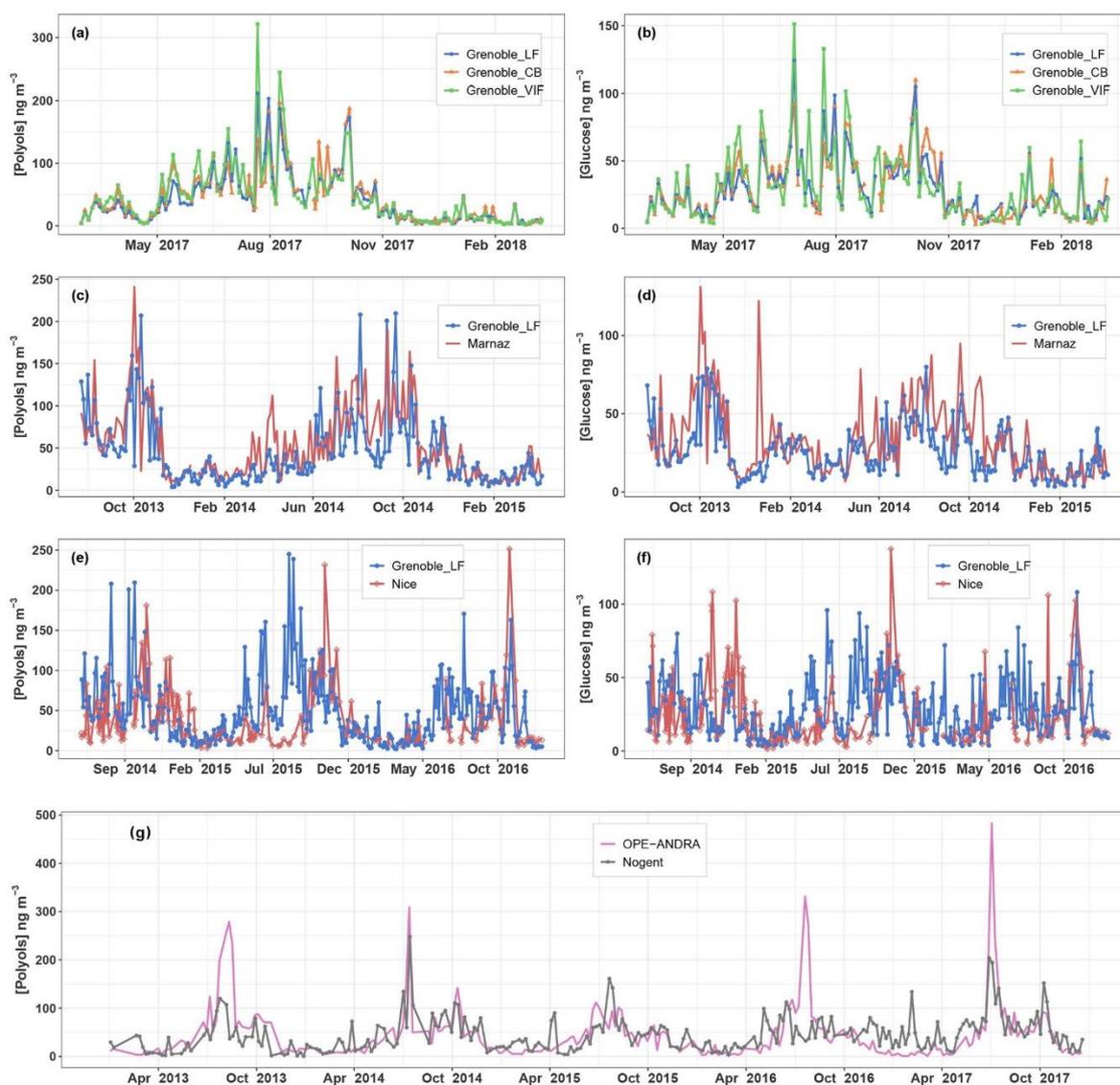


Figure 2. Concentrations (in ng m^{-3}) of (a, c, e) ambient particulate polyols (defined as the sum of arabitol and mannitol) and (b, d, f) glucose over different monitoring sites in France. Since PM_{10} were collected every 3 d at Nogent-sur-Oise and 6 d at OPE-ANDRA, the original datasets are averaged over consecutive 6 d intervals (g).

terms of seasonal and daily fluctuations for more distant sites (Grenoble and Nice, 205 km apart) that are located in different climatic regions (Alpine for Grenoble, Mediterranean for Nice). This contrasts with results from the rural background site of OPE-ANDRA and the suburban site of Nogent-sur-Oise, both located in a large field crop region of extensive agriculture and about 230 km apart from each other (Fig. 2g). Indeed, they present very similar variations in daily concentrations for multiyear series, despite their distance apart, with

concentration peaks generally more pronounced at the rural site of OPE-ANDRA.

The following sections are dedicated to the investigation of the processes that can lead to these similarities and differences according to these spatial scales.

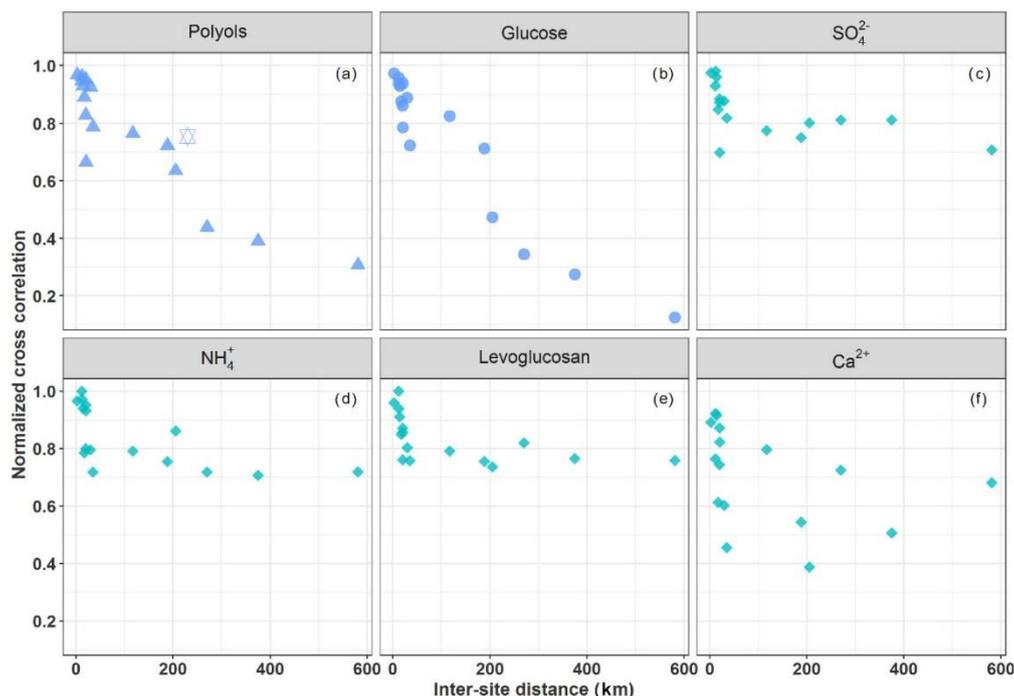


Figure 3. Normalized cross-correlation values for the daily evolution of particulate polyols (a), glucose (b), sulfate (c), ammonium (d), levoglucosan (e), and calcium (f) concentrations over pairs of sites located at multiple increasing space scales across France. The hexagram corresponds to the correlation between the sites of OPE-ANDRA and Nogent-sur-Oise, both sites being surrounded by crop field areas.

3.2 Inter-site correlations and spatial-scale variability

Figure 3a and b provide an overview of the cross-correlation coefficients for the daily evolution of concentrations (for polyols and glucose (SC)) between pairs of sites located at multiple increasing space scales across France (Table S3). Time series of concentrations for both SCs show a clear distance-dependent correlation. The strength of the correlations is highly significant for distances up to 150–190 km ($R > 0.72$, $p < 0.01$) and gradually decreases with increasing inter-site distances. One exception is the pair OPE-ANDRA and Nogent-sur-Oise (high correlation for a distance above 230 km), both sites being located in highly impacted agricultural areas. This overall pattern suggests that the processes responsible for the atmospheric concentrations of SC present a spatial homogeneity over typical areas of at least several tens of kilometers.

Unlike SC, ambient air concentrations of sulfate (Fig. 3c) and ammonium (Fig. 3d), associated with long-range aerosol transport (Abdalmogith and Harrison, 2005; Amato et al., 2016; Coulibaly et al., 2015; Pindado and Perez, 2011; Waked et al., 2014), and levoglucosan (Fig. 3e), associated with biomass burning (Weber et al., 2019; Xiao et al., 2018), display stronger positive correlations ($R > 0.72$ –0.98,

$p < 0.01$) at all pairs of sites considered in the present work. The concentrations of levoglucosan and those of SC clearly display very different annual atmospheric evolution cycles: i.e., higher concentrations of levoglucosan in France are observed in the coldest season (winter) due to the increased biomass burning, while those of SC are observed in warm seasons and coinciding with negligible ambient concentrations of levoglucosan (Fig. S3). Moreover, ambient concentrations of calcium (Fig. 3f), associated with local fugitive dust sources or/and long-range aerosol transport (Ram et al., 2010; Wan et al., 2019) display random correlation patterns. These results are in agreement with Zhu et al. (2018b), who also reported nonsignificant correlations between SC and sulfate in $\text{PM}_{2.5}$ aerosols measured at Shanghai, China. The distinct spatial behaviors between sulfate (or Ca^{2+}) and SC in the present work further suggest a dominant regional influence for atmospheric SC, as opposed to processes associated with either local sources for calcium or long-range transport for sulfate.

Mannitol and arabitol are well-known materials of fungal spores, serving as osmoregulatory solutes (Medeiros et al., 2006b; Simoneit et al., 2004; Verma et al., 2018; Xiao et al., 2018; Zhang et al., 2015). Based on parallel measurements of spore counts and PM_{10} polyol concentrations

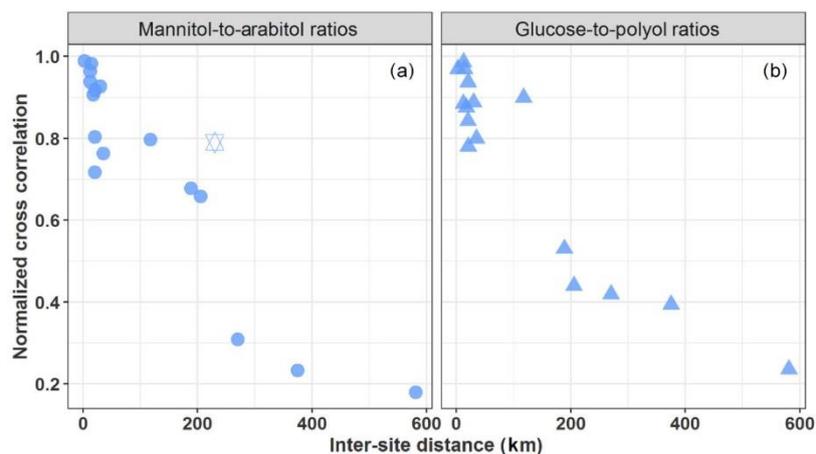


Figure 4. Normalized cross-correlation values for daily evolution of particulate mannitol-to-arabitol (a) and glucose-to-polyols (b) ratios over pairs of sites located at multiple increasing space scales across France. The hexagram corresponds to the correlation between the sites of OPE-ANDRA and Nogent-sur-Oise, both sites being surrounded by crop field areas.

at three sites within the area of Vienna (Austria), Bauer et al. (2008) found an average arabitol and mannitol content per fungal spores of, respectively, 1.2 pg per spore (range 0.8–1.8 pg per spore) and 1.7 pg per spore (range 1.2–2.4 pg per spore). Mannitol and arabitol have also often been identified in the green algae and lower plants (Buiarelli et al., 2013; Di Filippo et al., 2013; Gosselin et al., 2016; Véléz et al., 2007; Xu et al., 2018; Zhang et al., 2010). Gosselin et al. (2016) observed a relatively low ($R^2 = 0.31$) to high ($R^2 = 0.84$) coefficient of determination between mannitol and arabitol for total suspended particles (TSPs) collected at a pine-forested area during dry and rainy periods, respectively. High correlation in rainy periods possibly suggested that both chemical species in the TSP fraction in this pine-forested area could have been derived mainly from the same sources, i.e., actively wet-discharged ascospores and basidiospores, while the relatively poor correlation in dry periods could likely have been due to more complex sources (dry discharged spores, plants, algae, etc.). Being important chemical species for the metabolism of the microorganisms (Shcherbakova, 2007), it may well be that the concentration ratio of mannitol to arabitol could deliver some information on the spatial or temporal evolution of their emission processes (Gosselin et al., 2016). The annual average mannitol-to-arabitol ratio at all sites is about 1.15 ± 0.59 , with ratios for the warm period (June–September) being 1 to 2 times higher than those in the cold period (December–May) (Table S1). These ratios are within the range of those previously reported for PM_{10} aerosols collected at various urban and rural background sites in Europe (Bauer et al., 2008; Yttri et al., 2011b). Similarly, Burshtein et al. (2011) also reported comparable ratios for PM_{10} aerosols collected during autumn and winter from a Mediterranean region in Israel.

Similarly, the annual average glucose-to-polyols ratio at all sites is about 0.79 ± 0.77 . No literature data are currently available for comparison. Further work is needed to relate these variations with microorganism communities and plant growing stages.

However, as evidenced in Fig. 4, both mannitol-to-arabitol and glucose-to-polyols ratios show a clear distance-dependent correlation, with higher correlations ($R = 0.64$ to 0.98 , $p < 0.01$) observed for pairs of sites within 150–190 km distance. This spatial consistency highlights once again that the dominant emission processes should be effective regionally, rather than being specific local input processes, and that atmospheric dynamics of the concentration levels (i.e., driven by the interplay of emission and removal processes) are determined by quite similar environmental factors (e.g., meteorological conditions, vegetation, land use) at such a regional scale. This implies that local events and phenomena, such as the mechanical resuspension of topsoil and associated biota (like bacteria, fungi, plant materials), might not be their major atmospheric input processes, particularly in urban background areas typically characterized by less bare soil and with a variable nature of the unpaved topsoil at the regional scale (Karimi et al., 2018). Furthermore, Karimi et al. (2018) also recently reported heterogeneous topsoil microbial structure within patches of 43 to 260 km across different regions of France. It follows that the hypotheses of emissions related to the mechanical resuspension of topsoil particles and associated biota or microbiota emitted actively from surface soil into the air generally assumed in most pioneering reports (Medeiros et al., 2006b; Rogge et al., 2007; Simoneit et al., 2004; Wan and Yu, 2007) are most probably not valid.

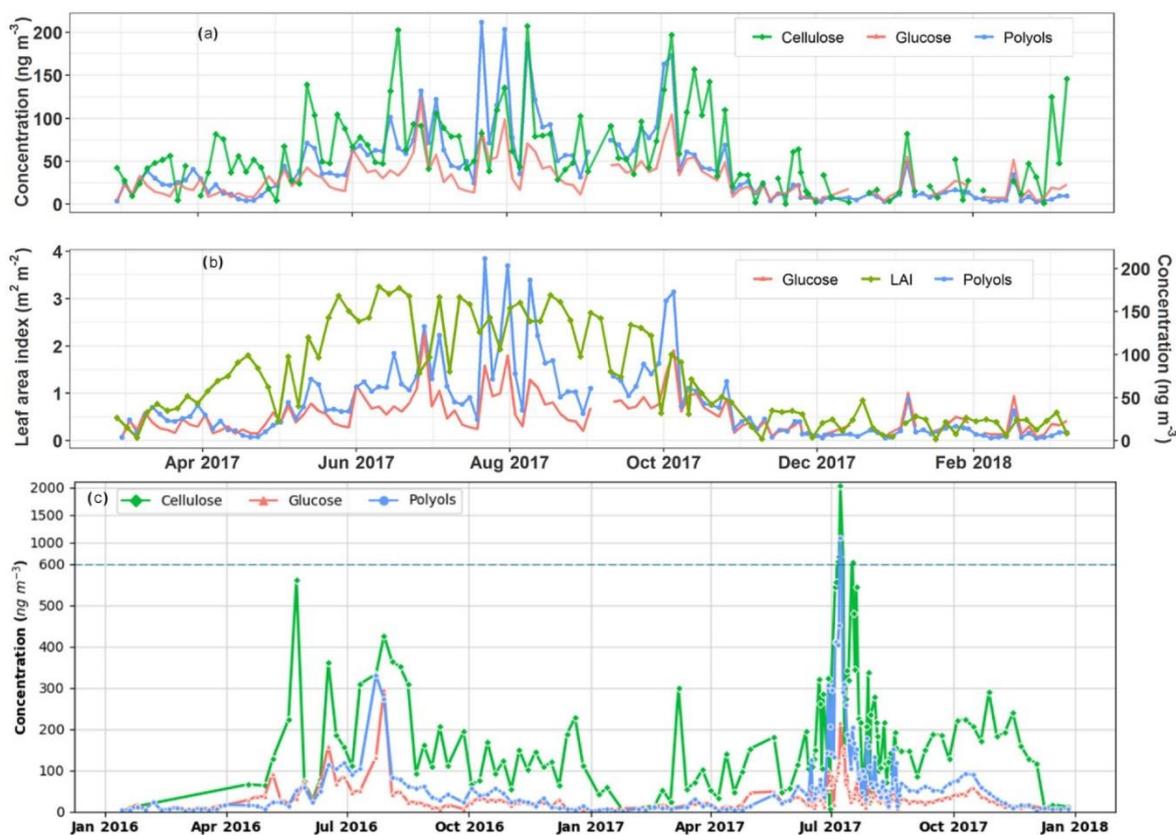


Figure 5. Temporal covariation cycles of the daily particulate polyol and glucose concentrations along with vegetation indicators at the urban background site of Grenoble (a, b) and the rural agricultural background site of OPE-ANDRA (c). Note that PM_{10} aerosols are intensively collected at OPE-ANDRA every day (24 h) from 12 June to 22 August 2017 and that the concentration scale changes above 600 ng m^{-3} in (c) due to an extreme concentration peak in July 2017. The horizontal dashed line denotes this change in y axis scale.

Alternatively, the vegetation leaves have also been suggested as sources of atmospheric SCs (Bozzetti et al., 2016; Golly et al., 2018; Jia et al., 2010; Myriokefalitakis et al., 2017; Pashynska et al., 2002; Sullivan et al., 2011; Verma et al., 2018; Wan et al., 2019). In fact, vascular plant leaf surfaces is an important habitat for endophytic and epiphytic microbial communities (Kembel and Mueller, 2014; Lindow and Brandl, 2003; Lymperopoulou et al., 2016; Mhuireach et al., 2016; Whipps et al., 2008). Our results are more in agreement with a dominant atmosphere entrance process closely linked to vegetation, which is more homogeneous than topsoil at the climatic regional scale. Consistent with this, Sullivan et al. (2011) also observed evident distinct regional patterns for daily $\text{PM}_{2.5}$ polyol and glucose concentrations at 10 urban and rural sites located in the upper Midwest (USA). The authors attributed such a spatial pattern to the differences in vegetation types and microbial diversity over distinct geographical regions. Accordingly, the vegetation struc-

ture and composition have previously been shown to play essential roles on airborne microbial variabilities in nearby areas (Bowers et al., 2011; Laforest-Lapointe et al., 2017; Lymperopoulou et al., 2016; Mhuireach et al., 2016).

3.3 Influence of the vegetation on polyol and glucose concentrations

The relationships between SC PM_{10} concentrations and vegetation (plant materials) can be examined at the site of Grenoble Les Frènes (Grenoble_LF) by comparing the annual evolutions of SC and the free atmospheric cellulose concentrations, together with LAI ones.

The daily ambient concentration levels of SC and cellulose range, respectively, from 5.0 to 301.9 ng m^{-3} (with an average of $41.2 \pm 39.9 \text{ ng m}^{-3}$) and 0.7 to 207.2 ng m^{-3} (with an average of $52.9 \pm 44.2 \text{ ng m}^{-3}$), which corresponds to, respectively, to 0.1 % to 6.6 % and 0.01 % to 5.3 % of total OM mass in PM_{10} . These values are comparable to those previ-

ously reported for various sites in Europe (Daellenbach et al., 2017; Sánchez-Ochoa et al., 2007; Vlachou et al., 2018; Yttri et al., 2011b). Thus, a major part of PBOA could possibly be ascribed to cellulose and SC-derived sources.

As evidenced in Fig. 5a, ambient free cellulose concentrations vary seasonally, with maximum seasonal average values observed in summer ($81.4 \pm 47.6 \text{ ng m}^{-3}$) and autumn ($64.2 \pm 49.2 \text{ ng m}^{-3}$), followed by spring ($52.6 \pm 37.8 \text{ ng m}^{-3}$) and lower levels in winter ($23.0 \pm 19.9 \text{ ng m}^{-3}$). This is the same global pattern for polyols, which are also more abundant in summer ($82.4 \pm 47.4 \text{ ng m}^{-3}$) and autumn ($48.7 \pm 41.6 \text{ ng m}^{-3}$), followed by spring ($24.9 \pm 16.3 \text{ ng m}^{-3}$) and winter ($10.2 \pm 9.6 \text{ ng m}^{-3}$) in the Grenoble area. On a daily scale, the episodic increases or decreases in polyols in PM_{10} are very often well synchronized with that in cellulose (Fig. 5a). Moreover, the maximum atmospheric concentrations of polyols also mainly occur when the vegetation density (LAI) is at its highest in late summer (Fig. 5b). Similar global behaviors are also observed for atmospheric particulate glucose and LAI (Fig. 5a and b). To further assess the relationships between SC PM_{10} concentrations and vegetation in a rural area, a 2-year measurement of cellulose concentrations at the highly impacted agricultural rural site of OPE-ANDRA has been conducted. The average concentration of cellulose at OPE-ANDRA ($197.9 \pm 217.8 \text{ ng m}^{-3}$) is 3.5 times higher than that measured in the urban area of Grenoble. In terms of temporal dynamics, the evolution cycles (i.e., peaks and decreases) of both polyols and glucose are also very often well synchronized with that of cellulose at OPE-ANDRA (Fig. 5c).

Altogether, these findings highlight that SC in PM_{10} and cellulose in both urban background and rural agricultural areas most probably share a common source related to the vegetation. This is additional evidence in support of the hypothesis suggested in previous studies (Bozzetti et al., 2016; Burshtein et al., 2011; Daellenbach et al., 2017; Pashynska et al., 2002; Verma et al., 2018; Vlachou et al., 2018; Wan and Yu, 2007; Yttri et al., 2007). It is also in line with studies indicating that the PBOA source profile identified using offline aerosol mass spectrometry (offline-AMS) correlates very well with coarse cellulose concentrations (Bozzetti et al., 2016; Vlachou et al., 2018). A noticeable contribution of cellulose to PBOA mass (26 %) at the rural background site of Payerne (Switzerland), during summer 2012 and winter 2013, was reported by Bozzetti et al. (2016).

As also evidenced in Fig. 5, the cellulose concentration peaks are not systematically correlated to those of polyols. The development stage of the plants (developing or mature leaves, flowering plants) in addition to the metabolic activities of endophytic and epiphytic biota (growth, sporulation), all closely related to meteorological conditions (Bodenhausen et al., 2014; Bringel and Couée, 2015; Lindow and Brandl, 2003; Pirttilä and Frank, 2011; Reddy et al., 2017), could explain such observations. The influence of local meteorological conditions for an urban Alpine valley site

is discussed in Sect. 3.4. Consistent with our observations, previous studies conducted at various urban background sites in Europe have suggested that particulate polyols are associated to mature plant leaves and microorganisms (bacterial and fungal spores), while glucose, which is a monomer of cellulose, would most likely be linked to the developing leaves (Bozzetti et al., 2016; Burshtein et al., 2011; Pashynska et al., 2002; Yttri et al., 2007; Zhu et al., 2015).

3.4 Influence of meteorological parameters on ambient concentrations of polyols and glucose

We used here a multiple linear regression analysis (MLR) approach to gain further insight into the environmental factors influencing the annual and short time variation cycles of atmospheric SC concentrations. This tentative MLR analysis is focused on the urban background site of Marnaz only since meteorological and other data are readily available for this site and are not influenced too much by some large city effects. Several variables were tested, which are already mentioned in the literature as drivers of SC concentrations. It includes the ambient relative humidity, rainfall level, wind speed, solar radiation, nighttime temperature, average (or maximum) temperature, and LAI. Nighttime temperature was selected since the time series in Marnaz and Grenoble indicate that the major drop in concentrations in late fall (Fig. 2c) is related to the first night of the season with nighttime temperature below 5°C . The use of the night temperature is also consistent with the bimodal distribution of polyols during nighttime and daytime found in previous studies (Claeys et al., 2004; Graham et al., 2003; Yan et al., 2019; Yttri et al., 2011a).

Overall, the environmental factors including the mean nighttime temperature, relative humidity, wind speed, and the leaf area index explain up to 82 % (adjusted $R^2 = 0.82$; see Table 1) of the annual temporal variation cycles of SC concentrations. The mean nighttime temperature and LAI contribute, respectively, 54 % and 37 % of the observed annual variabilities of SC concentrations. The atmospheric humidity is also a driver for these chemical species (3 % of the explained variation). These results are consistent with previous studies showing that concentrations of mannitol (in both PM_{10} and $\text{PM}_{2.5}$ size fractions) linearly correlate best with the LAI, atmospheric water vapor, and temperature (Heald and Spracklen, 2009; Hummel et al., 2015; Myriokefalitakis et al., 2017). All of these drivers have been previously shown to induce the initial release and influence the long-term airborne microbial (i.e., bacteria, fungi) concentrations (China et al., 2016; Elbert et al., 2007; Grinn-Gofroń et al., 2019; Jones and Harrison, 2004; Rathnayake et al., 2017; Zhang et al., 2015).

Besides, the wind speed (range of 0.2 to 5.6 m s^{-1}) seems an additional effective driver affecting the contribution of the local vegetation to SC concentrations in the atmosphere. Although enough air movement is required to passively re-

Table 1. Multiple linear regression for ambient polyol and glucose concentrations and their effective environmental factors at the Marnaz site. Contributions of predictor are normalized to sum 1. The “Relaimpo package under R” was used to compute bootstrap confidence intervals for the importance of effective predictors ($n = 1000$) (Grömping, 2006).

	Dependent variable	Variability explained by
	log(polyols + glucose)	effective predictors
Nighttime temperature (°C)	0.112*** (0.090, 0.133)	0.538 (0.453, 0.604)
Relative humidity (%)	0.017*** (0.005, 0.030)	0.030 (0.018, 0.067)
Leaf area index	0.386** (0.034, 0.737)	0.372 (0.286, 0.444)
Wind speed (m s^{-1})	0.226 (−0.203, 0.655)	0.021 (0.015, 0.058)
Leaf area index \times wind speed ^a	−0.596*** (−1.001, −0.191)	0.039 (0.014, 0.085)
Constant	2.023*** (0.787, 3.260)	
Observations		87
R^2		0.837
Adjusted R^2		0.824
Residual std. error	0.297 (df = 81)	
F statistic	66.677*** (df = 5; 81)	

Note: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; ^a interaction between predictors.

lease microorganisms along with plant debris into the atmosphere, strong air motions induce higher dispersion. These observations are in good agreement with those previously reported (Jones and Harrison, 2004; Liang et al., 2013; Zhang et al., 2010, 2015; Zhu et al., 2018b). For instance Liang et al. (2013) have found a negative correlation between wind speed and polyol concentrations, and the highest atmospheric fungal spores concentrations were observed for a wind speed range of 0.6 to 1.0 m s^{-1} .

One of the limitations of this study is that 4 d averaged observations do not allow us to evaluate the driver contributions that might explain some short-term events for which the influence of meteorological parameters such as rainfall or solar radiation could also be significant (Grinn-Gofroń et al., 2019; Heald and Spracklen, 2009; Jones and Harrison, 2004). However, such simple parameterizations could be a first step in considering SC concentrations in chemical-transport models (CTMs), and further work is required in this direction in order to generate a robust parameterization of the emissions.

3.5 Specific case of a highly impacted agricultural area

This section focuses on evidencing the environmental drivers of PM_{10} SC concentrations specific to agricultural areas. To achieve this objective, the site of OPE-ANDRA was selected because it is extensively impacted by agricultural activities, without being too prone to influences by other sources. OPE-ANDRA is a specific rural background observatory located about 230 km east of Paris at an altitude of 392 m. It is characterized by a low population density (< 22 inhabitants km^{-2} within an area of 900 km^2), with no surrounding major transport road or industrial activities. The air monitoring site itself lies in a “reference sector” of 240 km^2 , in the middle of a field crop area (tens of kilometers in all directions). The

daily agricultural practices within this reference sector are recorded and made available by ANDRA. The parcels within the agricultural area are submitted to a 3-year crop-rotation system. The major crops are wheat, barley, rape, pea, and sunflower. Additionally, OPE-ANDRA is also characterized by a homogeneous type of soil, with a predominance of superficial clay limestone.

Figure 6 shows the daily evolution of polyol concentrations in the PM_{10} fraction at OPE-ANDRA from 2012 to 2018, together with the agricultural activities recorded daily and averaged over 12 d.

Although the concentrations of polyols fluctuate from one year to another, they display clear annual variation cycles, with higher values in the warm periods (June–November) and lower concentration values in the cold periods (October–May). Interestingly, the annual concentrations of polyols in 2015 ($4.2\text{--}111.7 \text{ ng m}^{-3}$; annual average: $37.0 \pm 29.1 \text{ ng m}^{-3}$) are significantly lower than those observed for the other years ($0.6\text{--}1084.6 \text{ ng m}^{-3}$; annual average: $62.9 \pm 96.8 \text{ ng m}^{-3}$). Similar inter-annual evolution trends, but with variable intensities, are also observed for glucose concentrations (Fig. 6). The year 2015 was found to be particularly hot and dry at OPE-ANDRA (Fig. 7), whereas the locally averaged wind conditions are quite stable over the years within the period of study, suggesting that the wind conditions are not the main driver of the observed inter-annual variability. These results highlight that ambient air temperature and humidity are key meteorological drivers of the annual variation cycles of polyol and glucose concentrations. Hot and dry ambient air conditions may decrease the metabolic activity of the microorganisms (e.g., microbial growth and sporulation) (Fang et al., 2018; Liang et al., 2013; Meisner et al., 2018).

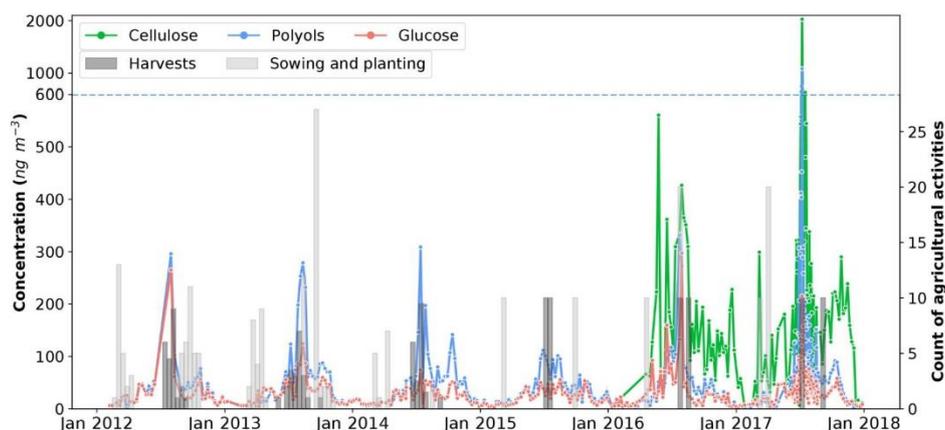


Figure 6. Daily evolution cycles of polyol and glucose concentrations in aerosols collected from the OPE-ANDRA monitoring site, from 2012 to 2018. Cellulose concentrations were measured from January 2016 to January 2018. Colored bars correspond to the sum of the various agricultural practices performed (data for 69 parcels are averaged over 12 d for better clarity). Records of agricultural activities after October 2014 were available for only two parcels within the immediate vicinity of the PM₁₀ sampler. Records are multiplied by 10 for this period.

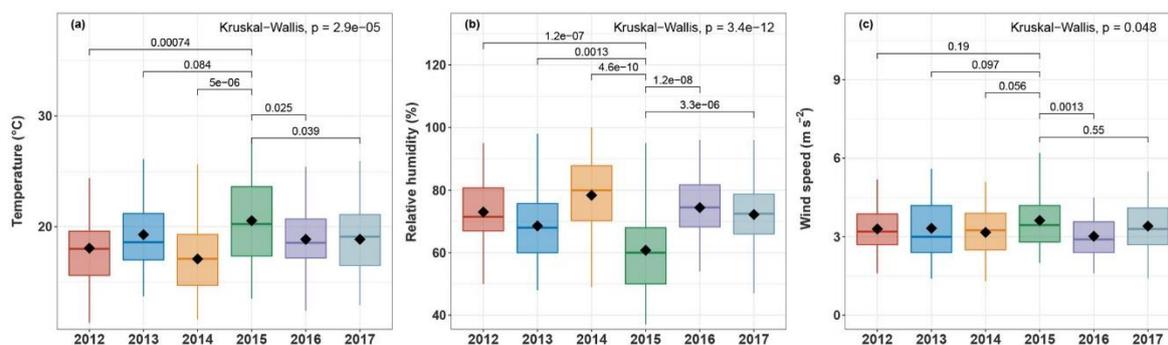


Figure 7. Boxplots of (a) maximum ambient temperature, (b) relative humidity, and (c) wind speed at OPE-ANDRA from 2012 to 2017. Analyses are performed for warmer periods (June–November). Only statistically different meteorological factors are presented. The black marker inside each boxplot indicates the average value, while the top, middle, and bottom of the box represent the 75th, median, and 25th percentiles, respectively. The whiskers at the top and bottom of the box extend from the 95th to the 5th percentiles. Statistical differences between average values were assessed with the Kruskal–Wallis method ($p < 0.05$).

Finally, maximum ambient concentration levels for both SC and cellulose are observed in excellent temporal agreement with the harvest periods (late summer) at the OPE-ANDRA site (Fig. 6). Harvesting activities have been previously reported as the major sources for particulate polyols and glucose to the atmosphere in agricultural and nearby urbanized areas (Golly et al., 2018; Rogge et al., 2007; Simoneit et al., 2004). Hence, the resuspension of plant materials (crop detritus, leaves debris) and associated microbiota (e.g., bacteria, fungi) originating from cultivated lands is the most likely major input process of PM₁₀ polyols and glucose at field crop sites.

4 Conclusions

The short-term temporal (daily) and spatial (local to nationwide) evolutions of particulate polyol (defined here as the sum of arabitol and mannitol) and glucose concentrations are rarely discussed in the current literature. The present work aimed at investigating the spatial behavior of these chemicals and evidencing their major effective environmental drivers. The major results mainly showed the following.

The short-term evolution of ambient polyol and glucose concentrations is highly synchronous across an urban city scale and remains very well correlated throughout the same geographic areas of France, even if the monitoring sites are situated in different cities about 150–190 km apart. However,

sampling sites located in two distinct geographic areas are poorly correlated. This indicates that emission sources of these chemicals are uniformly distributed, and their accumulation and removal processes are driven by quite similar environmental parameters at the regional scale. Therefore, local phenomena, such as the atmospheric resuspension of topsoil particles and associated microbiota and microbial direct emissions (e.g., sporulation), cannot be the main emission processes of particulate polyols and glucose in urban areas not directly influenced by agricultural activities.

The atmospheric concentrations of polyols (or glucose) and cellulose display remarkably synchronous temporal evolution cycles at the background urban site of Grenoble, indicating a common source related to plant debris.

Higher ambient concentrations of polyols and glucose at the rural site of OPE-ANDRA occur during each harvest period, pointing out resuspension processes of plant materials (crop detritus, leaves debris) and associated microbiota for agricultural and nearby urbanized areas. This is associated with higher PM₁₀ cellulose concentration levels, as high as 0.4 to 2.0 µg m⁻³ on a daily basis (accounting up to 7.5 % to 32.4 % of the OM mass).

Multiple linear regression analysis of the yearly series from the site of Marnaz gave insightful information on which parameter controls the ambient concentrations of polyols and glucose. Ambient air nighttime temperature, relative humidity, and vegetation density are the most important drivers, whilst wind speed conditions tend to affect the contribution of local vegetation.

Altogether, these results improve our understanding of the spatial behavior tracers of PM₁₀ PBOA emission sources in France and in general, which is imperative for further implementation of this important mass fraction of OM into chemical transport models. Further investigations of the airborne microbial fingerprint (bacteria and fungi) are ongoing, which may deepen our understanding of the PBOA source profile.

Data availability. All relevant data for this paper are archived at the IGE (Institut des Géosciences de l'Environnement), and are available upon request from the corresponding author (Jean-Luc Jafrezo).

Supplement. The supplement related to this article is available online at: <https://doi.org/10.5194/acp-19-11013-2019-supplement>.

Author contributions. JLJ was the (co-)supervisor for the PhDs for AS, FC, and SW and for the post-docs of DS, BG, and AW. He directed all the personnel who performed the analysis at IGE. He is the coordinator for the CNRS LEFE-EC2CO CAREMBIOS program that is funding the work of AS. GU and JMFM were the co-supervisor for the PhDs of AS and SW. EP, OF, and VR supervised the PhD of DMO, who investigated the sites in northern France. OF, JLJ, JLB, AA, and NM were the coordinators or partners of the

different initial programs for the collection and chemical analysis of the samples. VJ developed the analytical techniques for polyol and cellulose measurements. TC performed the cellulose measurements. Sample analyses at LSCE were performed by NB. AC gave advice on the statistical aspects of the data processing. AS and JLJ processed the data and wrote up the paper. SW participated in the visualization of the results. SC supervises the OPE station and collected the agricultural activities records. All authors from AASQA (author affiliation nos. 9 to 16) are representatives of each network that conducted the sample collection and the general supervision of the sampling sites. All authors reviewed and commented on the paper.

Competing interests. The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgements. We would like to express special acknowledgement of Pierre Taberlet (LECA, Grenoble, France) for fruitful discussions about the importance of endophytic and epiphytic biota for aerobiology. The PhDs of Abdoulaye Samaké and Samuël Weber are funded by the Government of Mali and ENS Paris, respectively. We gratefully acknowledge the LEFE-CHAT and EC2CO programs of the CNRS for financial support of the CAREMBIOS multidisciplinary project and the LEFE-CHAT program for the MECEA project for the development of the atmospheric cellulose measurements. Samples were collected and analyzed within the framework of many different programs funded by ADEME, Primequal, the French Ministry of Environment, the CARA program led by the French Reference Laboratory for Air Quality Monitoring (LCSQA), ANDRA, and actions funded by many AASQAs and IMT Lille Douai (especially Labex CaPPA ANR-11-LABX-0005-01 and CPER CLIMIBIO projects). Analytical aspects were supported at IGE by the Air-O-Sol platform within Labex OSUG@2020 (ANR10 LABX56). We acknowledge the work of many engineers in the lab at IGE for the analyses (Aude Wack, Céline Charlet, Fany Donaz, Fany Masson, Sylvie Ngo, Vincent Lucaire, Claire Vérin, and Anthony Vella). Finally, the authors would like to kindly thank the dedicated efforts of many other people at the sampling sites and in the laboratories for collecting and analyzing the samples.

Financial support. This research has been supported by the Centre National de la Recherche Scientifique (LEFE-CHAT and EC2CO programs: CAREMBIOS multidisciplinary project).

Review statement. This paper was edited by Alex Huffman and reviewed by three anonymous referees.

References

Abdalmoghith, S. S. and Harrison, R. M.: The use of trajectory cluster analysis to examine the long-range transport of secondary

- inorganic aerosol in the UK, *Atmos. Environ.*, 39, 6686–6695, <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2005.07.059>, 2005.
- Amato, F., Alastuey, A., Karanasiou, A., Lucarelli, F., Nava, S., Calzolari, G., Severi, M., Becagli, S., Gianelle, V. L., Colombi, C., Alves, C., Custódio, D., Nunes, T., Cerqueira, M., Pio, C., Eleftheriadis, K., Diapouli, E., Reche, C., Minguillón, M. C., Manousakas, M.-I., Maggos, T., Vratolis, S., Harrison, R. M., and Querol, X.: AIRUSE-LIFE+: a harmonized PM speciation and source apportionment in five southern European cities, *Atmos. Chem. Phys.*, 16, 3289–3309, <https://doi.org/10.5194/acp-16-3289-2016>, 2016.
- Amato, P., Brisebois, E., Draghi, M., Duchaine, C., Fröhlich-Nowoisky, J., Huffman, J. A., Mainelis, G., Robine, E., and Thibaudon, M.: Main biological aerosols, specificities, abundance, and diversity, in *Microbiology of Aerosols*, John Wiley & Sons, Ltd., 1–21, <https://doi.org/10.1002/9781119132318>, 2017.
- Ariya, P. A., Sun, J., Eltouny, N. A., Hudson, E. D., Hayes, C. T., and Kos, G.: Physical and chemical characterization of bioaerosols – implications for nucleation processes, *Int. Rev. Phys. Chem.*, 28, 1–32, <https://doi.org/10.1080/01442350802597438>, 2009.
- Barbaro, E., Kirchgeorg, T., Zangrando, R., Vecchiato, M., Piazza, R., Barbante, C., and Gambaro, A.: Sugars in Antarctic aerosol, *Atmos. Environ.*, 118, 135–144, <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.07.047>, 2015.
- Bardal, L. M. and Sætran, L. R.: Spatial correlation of atmospheric wind at scales relevant for large scale wind turbines, *J. Phys. Conf. Ser.*, 753, 032033, <https://doi.org/10.1088/1742-6596/753/3/032033>, 2016.
- Bauer, H., Claeys, M., Vermeylen, R., Schueller, E., Weinke, G., Berger, A., and Puxbaum, H.: Arabitol and mannitol as tracers for the quantification of airborne fungal spores, *Atmos. Environ.*, 42, 588–593, <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2007.10.013>, 2008.
- Bodenhausen, N., Bortfeld-Miller, M., Ackermann, M., and Vorholt, J. A.: A synthetic community approach reveals plant genotypes affecting the phyllosphere microbiota, *PLoS Genet.*, 10, e1004283, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004283>, 2014.
- Bowers, R. M., Sullivan, A. P., Costello, E. K., Collett, J. L., Knight, R., and Fiereri, N.: Sources of bacteria in outdoor air across cities in the midwestern United States., *Appl. Environ. Microbiol.*, 77, 6350–6356, <https://doi.org/10.1128/AEM.05498-11>, 2011.
- Bozzetti, C., Daellenbach, K. R., Hueglin, C., Fermo, P., Sciare, J., Kasper-Giebl, A., Mazar, Y., Abbaszade, G., El Kazzi, M., Gonzalez, R., Shuster-Meiseles, T., Flasch, M., Wolf, R., Křepelová, A., Canonaco, F., Schnelle-Kreis, J., Slowik, J. G., Zimmermann, R., Rudich, Y., Baltensperger, U., El Haddad, I., and Prévôt, A. S. H.: Size-resolved identification, characterization, and quantification of primary biological organic aerosol at a European rural site, *Environ. Sci. Technol.*, 50, 3425–3434, <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05960>, 2016.
- Bringel, F. and Couée, I.: Pivotal roles of phyllosphere microorganisms at the interface between plant functioning and atmospheric trace gas dynamics, *Front. Microbiol.*, 6, 486, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00486>, 2015.
- Buiarelli, F., Canepari, S., Di Filippo, P., Perrino, C., Pomata, D., Riccardi, C., and Speziale, R.: Extraction and analysis of fungal spore biomarkers in atmospheric bioaerosol by HPLC–MS–MS and GC–MS, *Talanta*, 105, 142–151, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.11.006>, 2013.
- Burshtein, N., Lang-Yona, N., and Rudich, Y.: Ergosterol, arabitol and mannitol as tracers for biogenic aerosols in the eastern Mediterranean, *Atmos. Chem. Phys.*, 11, 829–839, <https://doi.org/10.5194/acp-11-829-2011>, 2011.
- Chen, J., Kawamura, K., Liu, C.-Q., and Fu, P.: Long-term observations of saccharides in remote marine aerosols from the western North Pacific: A comparison between 1990–1993 and 2006–2009 periods, *Atmos. Environ.*, 67, 448–458, <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.11.014>, 2013.
- China, S., Wang, B., Weis, J., Rizzo, L., Brito, J., Cirino, G. G., Kovarik, L., Artaxo, P., Gilles, M. K., and Laskin, A.: Rupturing of biological spores as a source of secondary particles in Amazonia, *Environ. Sci. Technol.*, 50, 12179–12186, 2016.
- China, S., Burrows, S. M., Wang, B., Harder, T. H., Weis, J., Tanarhte, M., Rizzo, L. V., Brito, J., Cirino, G. G., Ma, P.-L., Cliff, J., Artaxo, P., Gilles, M. K., and Laskin, A.: Fungal spores as a source of sodium salt particles in the Amazon basin, *Nat. Commun.*, 9, 4793, <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07066-4>, 2018.
- Claeys, M., Graham, B., Vas, G., Wang, W., Vermeylen, R., Pashynska, V., Cafmeyer, J., Guyon, P., Andreae, M. O., Artaxo, P., and Maenhaut, W.: Formation of secondary organic aerosols through photooxidation of isoprene, *Science*, 303, 1173, <https://doi.org/10.1126/science.1092805>, 2004.
- Coulibaly, S., Minami, H., Abe, M., Hasei, T., Sera, N., Yamamoto, S., Funasaka, K., Asakawa, D., Watanabe, M., Honda, N., Wakabayashi, K., and Watanabe, T.: Seasonal fluctuations in air pollution in Dazaifu, Japan, and effect of long-range transport from mainland east Asia, *Biol. Pharm. Bull.*, 38, 1395–1403, <https://doi.org/10.1248/bpb.b15-00443>, 2015.
- Coz, E., Artñano, B., Clark, L. M., Hernandez, M., Robinson, A. L., Casuccio, G. S., Lersch, T. L., and Pandis, S. N.: Characterization of fine primary biogenic organic aerosol in an urban area in the northeastern United States, *Atmos. Environ.*, 44, 3952–3962, 2010.
- Daellenbach, K. R., Stefenelli, G., Bozzetti, C., Vlachou, A., Fermo, P., Gonzalez, R., Piazzalunga, A., Colombi, C., Canonaco, F., Hueglin, C., Kasper-Giebl, A., Jaffrezou, J.-L., Bianchi, F., Slowik, J. G., Baltensperger, U., El-Haddad, I., and Prévôt, A. S. H.: Long-term chemical analysis and organic aerosol source apportionment at nine sites in central Europe: source identification and uncertainty assessment, *Atmos. Chem. Phys.*, 17, 13265–13282, <https://doi.org/10.5194/acp-17-13265-2017>, 2017.
- Dai, Y.-H. and Zhou, W.-X.: Temporal and spatial correlation patterns of air pollutants in Chinese cities, *PLoS ONE*, 12, e0182724, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182724>, 2017.
- Després, V. R., Alex Huffman, J., Burrows, S. M., Hoose, C., Safatov, A. S., Buryak, G., Fröhlich-Nowoisky, J., Elbert, W., Andreae, M. O., Pöschl, U., and Jaenicke, R.: Primary biological aerosol particles in the atmosphere: a review, *Tellus B*, 64, 15598, <https://doi.org/10.3402/tellusb.v64i0.15598>, 2012.
- Di Filippo, P., Pomata, D., Riccardi, C., Buiarelli, F., and Perrino, C.: Fungal contribution to size-segregated aerosol measured through biomarkers, *Atmos. Environ.*, 64, 132–140, 2013.
- Eisner, A. D., Richmond-Bryant, J., Hahn, I., Drake-Richman, Z. E., Brixey, L. A., Wiener, R. W., and Ellenson, W. D.: Analysis

- of indoor air pollution trends and characterization of infiltration delay time using a cross-correlation method, *J. Environ. Monit.*, 11, 2201, <https://doi.org/10.1039/b907144j>, 2009.
- Elbert, W., Taylor, P. E., Andreae, M. O., and Pöschl, U.: Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: wet and dry discharged spores, carbohydrates, and inorganic ions, *Atmos. Chem. Phys.*, 7, 4569–4588, <https://doi.org/10.5194/acp-7-4569-2007>, 2007.
- Fang, Z., Guo, W., Zhang, J., and Lou, X.: Influence of heat Events on the composition of airborne bacterial communities in urban ecosystems, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 15, 2295, <https://doi.org/10.3390/ijerph15102295>, 2018.
- Fröhlich-Nowoisky, J., Pickersgill, D. A., Després, V. R., and Pöschl, U.: High diversity of fungi in air particulate matter, *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 106(31), 12814–12819, <https://doi.org/10.1073/pnas.0811003106>, 2009.
- Fröhlich-Nowoisky, J., Kampf, C. J., Weber, B., Huffman, J. A., Pöhlker, C., Andreae, M. O., Lang-Yona, N., Burrows, S. M., Gunthe, S. S., Elbert, W., Su, H., Hoor, P., Thines, E., Hoffmann, T., Després, V. R., and Pöschl, U.: Bioaerosols in the earth system: climate, health, and ecosystem interactions, *Atmos. Res.*, 182, 346–376, <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2016.07.018>, 2016.
- Fröhlich-Nowoisky, J., Amato, P., Renard, P., Brisebois, E., and Duchaine, C.: Quantification and characterization of bioaerosols (offline techniques), in: *Microbiology of Aerosols*, John Wiley & Sons, Ltd., 49–82, <https://doi.org/10.1002/9781119132318>, 2017.
- Glasius, M., Hansen, A. M. K., Claeys, M., Henzing, J. S., Jedynska, A. D., Kasper-Giebl, A., Kistler, M., Kristensen, K., Martinsson, J., Maenhaut, W., Nøjgaard, J. K., Spindler, G., Stenström, K. E., Swietlicki, E., Szidat, S., Simpson, D., and Yttri, K. E.: Composition and sources of carbonaceous aerosols in northern Europe during winter, *Atmos. Environ.*, 173, 127–141, <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.11.005>, 2018.
- Golly, B., Waked, A., Weber, S., Samaké, A., Jacob, V., Conil, S., Rangognio, J., Chrétien, E., Vagnot, M.-P., Robic, P.-Y., Besombes, J.-L., and Jaffrezo, J.-L.: Organic markers and OC source apportionment for seasonal variations of PM_{2.5} at 5 rural sites in France, *Atmos. Environ.*, 198, 142–157, <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.10.027>, 2018.
- Gosselin, M. I., Rathnayake, C. M., Crawford, I., Pöhlker, C., Fröhlich-Nowoisky, J., Schmer, B., Després, V. R., Engling, G., Gallagher, M., Stone, E., Pöschl, U., and Huffman, J. A.: Fluorescent bioaerosol particle, molecular tracer, and fungal spore concentrations during dry and rainy periods in a semi-arid forest, *Atmos. Chem. Phys.*, 16, 15165–15184, <https://doi.org/10.5194/acp-16-15165-2016>, 2016.
- Graham, B., Guyon, P., Taylor, P. E., Artaxo, P., Maenhaut, W., Glovsky, M. M., Flagan, R. C., and Andreae, M. O.: Organic compounds present in the natural Amazonian aerosol: Characterization by gas chromatography-mass spectrometry: organic compounds in Amazonian aerosols., *J. Geophys. Res.-Atmos.*, 108, 4766, <https://doi.org/10.1029/2003JD003990>, 2003.
- Grinn-Gofroń, A., Nowosad, J., Bosiacka, B., Camacho, I., Pashley, C., Belmonte, J., De Linares, C., Ianovici, N., Manzano, J. M. M., Sadyś, M., Skjøth, C., Rodinkova, V., Tormo-Molina, R., Vokou, D., Fernández-Rodríguez, S., and Damialis, A.: Airborne alternaria and Cladosporium fungal spores in Europe: forecasting possibilities and relationships with meteorological parameters, *Sci. Total Environ.*, 653, 938–946, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.419>, 2019.
- Grömping, U.: Relative importance for linear regression in R: the package relaimpo, *J. Stat. Softw.*, 17, 1–27, <https://doi.org/10.18637/jss.v017.i01>, 2006.
- Heald, C. L. and Spracklen, D. V.: Atmospheric budget of primary biological aerosol particles from fungal spores, *Geophys. Res. Lett.*, 36, L09806, <https://doi.org/10.1029/2009GL037493>, 2009.
- Hill, T. C. J., DeMott, P. J., Conen, F., and Möhler, O.: Impacts of bioaerosols on atmospheric ice nucleation processes, in: *Microbiology of Aerosols*, John Wiley & Sons, Ltd., 195–219, <https://doi.org/10.1002/9781119132318>, 2017.
- Hiranuma, N., Adachi, K., Bell, D. M., Belosi, F., Beydoun, H., Bhaduri, B., Bingemer, H., Budke, C., Clemen, H.-C., Conen, F., Cory, K. M., Curtius, J., DeMott, P. J., Eppers, O., Grawe, S., Hartmann, S., Hoffmann, N., Höhler, K., Jantsch, E., Kiselev, A., Koop, T., Kulkarni, G., Mayer, A., Murakami, M., Murray, B. J., Nicosia, A., Petters, M. D., Piazza, M., Polen, M., Reicher, N., Rudich, Y., Saito, A., Santachiara, G., Schiebel, T., Schill, G. P., Schneider, J., Segev, L., Stopelli, E., Sullivan, R. C., Suski, K., Szakáll, M., Tajiri, T., Taylor, H., Tobo, Y., Ullrich, R., Weber, D., Wex, H., Whale, T. F., Whiteside, C. L., Yamashita, K., Zelenyuk, A., and Möhler, O.: A comprehensive characterization of ice nucleation by three different types of cellulose particles immersed in water, *Atmos. Chem. Phys.*, 19, 4823–4849, <https://doi.org/10.5194/acp-19-4823-2019>, 2019.
- Holden, A. S., Sullivan, A. P., Munchak, L. A., Kreidenweis, S. M., Schichtel, B. A., Malm, W. C., and Collett, J. L.: Determining contributions of biomass burning and other sources to fine particle contemporary carbon in the western United States, *Atmos. Environ.*, 45, 1986–1993, <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2011.01.021>, 2011.
- Huffman, J. A. and Santarpia, J.: Online Techniques for quantification and characterization of biological aerosols, in: *Microbiology of Aerosols*, John Wiley & Sons, Ltd., 83–114, <https://doi.org/10.1002/9781119132318>, 2017.
- Humbal, C., Gautam, S., and Trivedi, U.: A review on recent progress in observations, and health effects of bioaerosols, *Environ. Int.*, 118, 189–193, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.05.053>, 2018.
- Hummel, M., Hoose, C., Gallagher, M., Healy, D. A., Huffman, J. A., O'Connor, D., Pöschl, U., Pöhlker, C., Robinson, N. H., Schnaiter, M., Sodeau, J. R., Stengel, M., Toprak, E., and Vogel, H.: Regional-scale simulations of fungal spore aerosols using an emission parameterization adapted to local measurements of fluorescent biological aerosol particles, *Atmos. Chem. Phys.*, 15, 6127–6146, <https://doi.org/10.5194/acp-15-6127-2015>, 2015.
- Jacobson, M. Z. and Streets, D. G.: Influence of future anthropogenic emissions on climate, natural emissions, and air quality, *J. Geophys. Res.*, 114, D08118, <https://doi.org/10.1029/2008JD011476>, 2009.
- Jaenicke, R.: Abundance of cellular material and proteins in the atmosphere, *Science*, 308, 73–73, <https://doi.org/10.1126/science.1106335>, 2005.
- Jia, Y., Bhat, S., and Fraser, M. P.: Characterization of saccharides and other organic compounds in fine particles and the use of saccharides to track primary biological

11028

A. Samaké et al.: Arabitol, mannitol, and glucose as tracers of primary biogenic organic aerosol

- cally derived carbon sources, *Atmos. Environ.*, 44, 724–732, <https://doi.org/10.1021/es103104e>, 2010.
- Jia, Y., Bhat, S., and Fraser, M. P.: Characterization of saccharides and other organic compounds in fine particles and the use of saccharides to track primary biologically derived carbon sources, *Atmos. Environ.*, 44, 724–732, <https://doi.org/10.1021/es103104e>, 2011.
- Jones, A. M. and Harrison, R. M.: The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations – a review, *Sci. Total Environ.*, 326, 151–180, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2003.11.021>, 2004.
- Kang, M., Ren, L., Ren, H., Zhao, Y., Kawamura, K., Zhang, H., Wei, L., Sun, Y., Wang, Z., and Fu, P.: Primary biogenic and anthropogenic sources of organic aerosols in Beijing, China: Insights from saccharides and n-alkanes, *Environ. Pollut.*, 243, 1579–1587, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.09.118>, 2018.
- Karimi, B., Terrat, S., Dequiedt, S., Saby, N. P. A., Horrigue, W., Lelièvre, M., Nowak, V., Jolivet, C., Arrouays, D., Wincker, P., Cruaud, C., Bispo, A., Maron, P.-A., Bouré, N. C. P., and Ranzard, L.: Biogeography of soil bacteria and archaea across France, *Sci. Adv.*, 4, eaat1808, <https://doi.org/10.1126/sciadv.aat1808>, 2018.
- Kaso, A.: Computation of the normalized cross-correlation by fast Fourier transform, *PLOS ONE*, 13, e0203434, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203434>, 2018.
- Kembel, S. W. and Mueller, R. C.: Plant traits and taxonomy drive host associations in tropical phyllosphere fungal communities, *Botany*, 92, 303–311, <https://doi.org/10.1139/cjb-2013-0194>, 2014.
- Kunit, M. and Puxbaum, H.: Enzymatic determination of the cellulose content of atmospheric aerosols, *Atmos. Environ.*, 30, 1233–1236, [https://doi.org/10.1016/1352-2310\(95\)00429-7](https://doi.org/10.1016/1352-2310(95)00429-7), 1996.
- Laforest-Lapointe, I., Messier, C., and Kembel, S. W.: Tree leaf bacterial community structure and diversity differ along a gradient of urban intensity, *mSystems*, 2, e00087-17, <https://doi.org/10.1128/mSystems.00087-17>, 2017.
- Lainer, M., Hocke, K., and Kämpfer, N.: Variability of mesospheric water vapor above Bern in relation to the 27-day solar rotation cycle, *J. Atmos. Sol.-Terr. Phys.*, 143–144, 71–87, <https://doi.org/10.1016/j.jastp.2016.03.008>, 2016.
- Le Pichon, A., Blanc, E., and Hauchecorne, A.: *Infrasound monitoring for atmospheric studies*, 2nd edn., Springer International Publishing, Switzerland, <https://doi.org/10.1007/978-3-319-75140-5>, 2019.
- Lecours, P. B., Duchaine, C., Thibaudon, M., and Marsolais, D.: Health impacts of bioaerosol exposure, in *Microbiology of Aerosols*, John Wiley & Sons, Ltd., 249–268, <https://doi.org/10.1002/9781119132318>, 2017.
- Li, L., Ren, L., Ren, H., Yue, S., Xie, Q., Zhao, W., Kang, M., Li, J., Wang, Z., Sun, Y., and Fu, P.: Molecular characterization and seasonal variation in primary and secondary organic aerosols in Beijing, China, *J. Geophys. Res.-Atmos.*, 123, 12394–12412, <https://doi.org/10.1029/2018JD028527>, 2018.
- Liang, L., Engling, G., He, K., Du, Z., Cheng, Y., and Duan, F.: Evaluation of fungal spore characteristics in Beijing, China, based on molecular tracer measurements, *Environ. Res. Lett.*, 8, 014005, <https://doi.org/10.1088/1748-9326/8/1/014005>, 2013.
- Lindow, S. E. and Brandl, M. T.: Microbiology of the Phyllosphere, *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 1875–1883, <https://doi.org/10.1128/AEM.69.4.1875-1883.2003>, 2003.
- Lymperopoulou, D. S., Adams, R. I., and Lindow, S. E.: Contribution of vegetation to the microbial composition of nearby outdoor air, *Appl. Environ. Microbiol.*, 82, 3822–3833, <https://doi.org/10.1128/AEM.00610-16>, 2016.
- Manninen, H. E., Bäck, J., Sihto-Nissilä, S.-L., Huffman, J. A., Pessi, A.-M., Hiltunen, V., Aalto, P. P., Hidalgo Fernández, P. J., Hari, P., Saarto, A., Kulmala, M., and Petäjä, T.: Patterns in airborne pollen and other primary biological aerosol particles (PBAP), and their contribution to aerosol mass and number in a boreal forest, *Boreal Environ. Res.*, 383–405, 2014.
- Martin, S. T., Andreae, M. O., Artaxo, P., Baumgardner, D., Chen, Q., Goldstein, A. H., Guenther, A., Heald, C. L., Mayol-Bracero, O. L., McMurry, P. H., Pauliquevis, T., Pöschl, U., Prather, K. A., Roberts, G. C., Saleska, S. R., Silva Dias, M. A., Spracklen, D. V., Swietlicki, E., and Trebs, I.: Sources and properties of Amazonian aerosol particles, *Rev. Geophys.*, 48, RG2002, <https://doi.org/10.1029/2008RG000280>, 2010.
- Medeiros, P. M., Fernandes, M. F., Dick, R. P., and Simoneit, B. R. T.: Seasonal variations in sugar contents and microbial community in a ryegrass soil, *Chemosphere*, 65, 832–839, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.03.025>, 2006a.
- Medeiros, P. M., Conte, M. H., Weber, J. C., and Simoneit, B. R. T.: Sugars as source indicators of biogenic organic carbon in aerosols collected above the Howland Experimental Forest, Maine, *Atmos. Environ.*, 40, 1694–1705, 2006b.
- Meisner, A., Jacquiod, S., Snoek, B. L., ten Hooven, F. C., and van der Putten, W. H.: Drought legacy effects on the composition of soil fungal and prokaryote communities, *Front. Microbiol.*, 9, 294, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00294>, 2018.
- Mhuireach, G., Johnson, B. R., Altrichter, A. E., Ladau, J., Meadow, J. F., Pollard, K. S., and Green, J. L.: Urban greenness influences airborne bacterial community composition, *Sci. Total Environ.*, 571, 680–687, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.037>, 2016.
- Morris, C. E., Sands, D. C., Bardin, M., Jaenicke, R., Vogel, B., Leyronas, C., Ariya, P. A., and Psenner, R.: Microbiology and atmospheric processes: research challenges concerning the impact of airborne micro-organisms on the atmosphere and climate, *Biogeosciences*, 8, 17–25, <https://doi.org/10.5194/bg-8-17-2011>, 2011.
- Morris, C. E., Conen, F., Alex Huffman, J., Phillips, V., Pöschl, U., and Sands, D. C.: Bioprecipitation: a feedback cycle linking Earth history, ecosystem dynamics and land use through biological ice nucleators in the atmosphere, *Glob. Change Biol.*, 20, 341–351, <https://doi.org/10.1111/gcb.12447>, 2014.
- Myriokefalitakis, S., Fanourgakis, G., and Kanakidou, M.: The Contribution of bioaerosols to the organic carbon budget of the atmosphere, in *Perspectives on Atmospheric Sciences*, Springer International Publishing, 845–851, <https://doi.org/10.1007/978-3-319-35095-0>, 2017.
- Nirmalkar, J., Deshmukh, D. K., Deb, M. K., Tsai, Y. I., and Pervez, S.: Characteristics of aerosol during major biomass burning events over eastern central India in winter: A tracer-based approach, *Atmos. Pollut. Res.*, 10, 817–826, <https://doi.org/10.1016/j.apr.2018.12.010>, 2018.

- Pashynska, V., Vermeylen, R., Vas, G., Maenhaut, W., and Claeys, M.: Development of a gas chromatographic/ion trap mass spectrometric method for the determination of levoglucosan and saccharidic compounds in atmospheric aerosols. Application to urban aerosols, *J. Mass Spectrom.*, 37, 1249–1257, <https://doi.org/10.1002/jms.391>, 2002.
- Perrino, C. and Marcovecchio, F.: A new method for assessing the contribution of primary biological atmospheric particles to the mass concentration of the atmospheric aerosol, *Environ. Int.*, 87, 108–115, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.11.015>, 2016.
- Pietrogrande, M. C., Bacco, D., Visentin, M., Ferrari, S., and Casali, P.: Polar organic marker compounds in atmospheric aerosol in the Po valley during the supersito campaigns – Part 2: seasonal variations of sugars, *Atmos. Environ.*, 97, 215–225, doi:10.1016/j.atmosenv.2014.07.056, 2014.
- Pindado, O. and Perez, R. M.: Source apportionment of particulate organic compounds in a rural area of Spain by positive matrix factorization, *Atmos. Pollut. Res.*, 2, 492–505, <https://doi.org/10.5094/APR.2011.056>, 2011.
- Pirttilä, A. M. and Frank, A. C. (Eds.): *Endophytes of forest trees*, Springer Netherlands, Dordrecht, <https://doi.org/10.1007/978-3-319-89833-9>, 2011.
- Puxbaum, H. and Tenze-Kunit, M.: Size distribution and seasonal variation of atmospheric cellulose, *Atmos. Environ.*, 37, 3693–3699, [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(03\)00451-5](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(03)00451-5), 2003.
- Rajput, P., Chauhan, A. S., and Gupta, T.: Bioaerosols over the indo-gangetic plain: influence of biomass burning emission and ambient meteorology, in *Environmental Contaminants: measurement, modelling and control*, Springer Singapore, 93–121, <https://doi.org/10.1007/978-981-10-7332-8>, 2018.
- Ram, K., Sarin, M. M., and Hegde, P.: Long-term record of aerosol optical properties and chemical composition from a high-altitude site (Manora Peak) in Central Himalaya, *Atmos. Chem. Phys.*, 10, 11791–11803, <https://doi.org/10.5194/acp-10-11791-2010>, 2010.
- Ramoni, J. and Seiboth, B.: Degradation of plant cell wall polymers by fungi, in *Environmental and microbial relationships*, Springer International Publishing, Cham., vol. IV, 127–148, <https://doi.org/10.1007/978-3-540-71840-6> 2016.
- Rathnayake, C. M., Metwali, N., Jayarathne, T., Kettler, J., Huang, Y., Thorne, P. S., O’Shaughnessy, P. T., and Stone, E. A.: Influence of rain on the abundance of bioaerosols in fine and coarse particles, *Atmos. Chem. Phys.*, 17, 2459–2475, <https://doi.org/10.5194/acp-17-2459-2017>, 2017.
- Reddy, S. M., Girisham, S., and Babu, G. N.: *Applied Microbiology (agriculture, environmental, food and industrial microbiology)*, Scientific Publishers, doi:9789387307407, 2017.
- Rogge, W. F., Medeiros, P. M., and Simoneit, B. R. T.: Organic marker compounds in surface soils of crop fields from the San Joaquin Valley fugitive dust characterization study, *Atmos. Environ.*, 41, 8183–8204, <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2007.06.030>, 2007.
- Samaké, A., Jaffrezo, J.-L., Favez, O., Weber, S., Jacob, V., Albinet, A., Riffault, V., Perdrix, E., Waked, A., Golly, B., Salameh, D., Chevrier, F., Oliveira, D. M., Bonnaire, N., Besombes, J.-L., Martins, J. M. F., Conil, S., Guillaud, G., Mesbah, B., Rocq, B., Robic, P.-Y., Hulin, A., Le Meur, S., Descheemaeker, M., Chretien, E., Marchand, N., and Uzu, G.: Polyols and glucose particulate species as tracers of primary biogenic organic aerosols at 28 French sites, *Atmos. Chem. Phys.*, 19, 3357–3374, <https://doi.org/10.5194/acp-19-3357-2019>, 2019.
- Sánchez-Ochoa, A., Kasper-Giebl, A., Puxbaum, H., Gelencser, A., Legrand, M., and Pio, C.: Concentration of atmospheric cellulose: a proxy for plant debris across a west-east transect over Europe, *J. Geophys. Res.*, 112, D23S08, <https://doi.org/10.1029/2006JD008180>, 2007.
- Sesartic, A. and Dallafior, T. N.: Global fungal spore emissions, review and synthesis of literature data, *Biogeosciences*, 8, 1181–1192, <https://doi.org/10.5194/bg-8-1181-2011>, 2011.
- Shcherbakova, L. A.: *Advanced methods of plant pathogen diagnostics, in Comprehensive and molecular phytopathology*, Elsevier, Amsterdam, 75–116, doi:9780080469331, 2007.
- Simoneit, B. R. T., Elias, V. O., Kobayashi, M., Kawamura, K., Rushdi, A. I., Medeiros, P. M., Rogge, W. F., and Didyk, B. M.: Sugars dominant water-soluble organic compounds in soils and characterization as tracers in atmospheric particulate matter, *Environ. Sci. Technol.*, 38, 5939–5949, <https://doi.org/10.1029/2004JD004598>, 2004.
- Srivastava, D., Favez, O., Bonnaire, N., Lucarelli, F., Haeffelin, M., Perraudin, E., Gros, V., Villenave, E., and Albinet, A.: Speciation of organic fractions does matter for aerosol source apportionment: part 2: intensive short-term campaign in the Paris area (France), *Sci. Total Environ.*, 634, 267–278, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.296>, 2018.
- Sullivan, A. P., Frank, N., Kenski, D. M., and Collett, J. L.: Application of high-performance anion-exchange chromatography-pulsed amperometric detection for measuring carbohydrates in routine daily filter samples collected by a national network 2: examination of sugar alcohols/polyols, sugars, and anhydrosugars in the upper Midwest, *J. Geophys. Res.-Atmos.*, 116, D08303, <https://doi.org/10.1029/2010JD014169>, 2011.
- Tanarhte, M., Bacer, S., Burrows, S. M., Huffman, J. A., Pierce, K. M., Pozzer, A., Sarda-Estève, R., Savage, N. J., and Lelieveld, J.: Global modeling of fungal spores with the EMAC chemistryclimate model: uncertainties in emission parametrizations and observations, *Atmos. Chem. Phys. Discuss.*, <https://doi.org/10.5194/acp-2019-251>, in review, 2019.
- Véléz, H., Glassbrook, N. J., and Daub, M. E.: Mannitol metabolism in the phytopathogenic fungus *alternaria alternata*, *Fungal Genet. Biol.*, 44, 258–268, <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2006.09.008>, 2007.
- Verma, S. K., Kawamura, K., Chen, J., and Fu, P.: Thirteen years of observations on primary sugars and sugar alcohols over remote Chichijima Island in the western North Pacific, *Atmos. Chem. Phys.*, 18, 81–101, <https://doi.org/10.5194/acp-18-81-2018>, 2018.
- Vlachou, A., Daellenbach, K. R., Bozzetti, C., Chazean, B., Salazar, G. A., Szidat, S., Jaffrezo, J.-L., Hueglin, C., Baltensperger, U., Haddad, I. E., and Prévôt, A. S. H.: Advanced source apportionment of carbonaceous aerosols by coupling offline AMS and radiocarbon size-segregated measurements over a nearly 2-year period, *Atmos. Chem. Phys.*, 18, 6187–6206, <https://doi.org/10.5194/acp-18-6187-2018>, 2018.
- Waked, A., Favez, O., Alleman, L. Y., Piot, C., Petit, J.-E., Delaunay, T., Verlinden, E., Golly, B., Besombes, J.-L., Jaffrezo, J.-L., and Leoz-Garziandia, E.: Source apportionment of PM10 in a north-western Europe regional urban background site (Lens, France) using positive matrix factorization and including pri-

11030

A. Samaké et al.: Arabitol, mannitol, and glucose as tracers of primary biogenic organic aerosol

- mary biogenic emissions, *Atmos. Chem. Phys.*, 14, 3325–3346, <https://doi.org/10.5194/acp-14-3325-2014>, 2014.
- Wan, E. C. H. and Yu, J. Z.: Analysis of sugars and sugar polyols in atmospheric aerosols by chloride attachment in liquid chromatography/negative ion electrospray mass spectrometry, *Environ. Sci. Technol.*, 41, 2459–2466, <https://doi.org/10.1021/es062390g>, 2007.
- Wan, X., Kang, S., Rupakheti, M., Zhang, Q., Tripathi, L., Guo, J., Chen, P., Rupakheti, D., Panday, A. K., Lawrence, M. G., Kawamura, K., and Cong, Z.: Molecular characterization of organic aerosols in the Kathmandu Valley, Nepal: insights into primary and secondary sources, *Atmos. Chem. Phys.*, 19, 2725–2747, <https://doi.org/10.5194/acp-19-2725-2019>, 2019.
- Wang, X., Shen, Z., Liu, F., Lu, D., Tao, J., Lei, Y., Zhang, Q., Zeng, Y., Xu, H., Wu, Y., Zhang, R., and Cao, J.: saccharides in summer and winter PM_{2.5} over Xi'an, northwestern China: sources, and yearly variations of biomass burning contribution to PM_{2.5}, *Atmos. Res.*, 214, 410–417, <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2018.08.024>, 2018.
- Weber, S., Uzu, G., Calas, A., Chevrier, F., Besombes, J.-L., Charon, A., Salameh, D., Ježek, I., Močnik, G., and Jaffrezo, J.-L.: An apportionment method for the oxidative potential of atmospheric particulate matter sources: application to a one-year study in Chamonix, France, *Atmos. Chem. Phys.*, 18, 9617–9629, <https://doi.org/10.5194/acp-18-9617-2018>, 2018.
- Weber, S., Salameh, D., Albinet, A., Alleman, L. Y., Waked, A., Besombes, J.-L., Jacob, V., Guillaud, G., Meshbah, B., Rocq, B., Hulin, A., Dominik-Ségue, M., Chrétien, E., Jaffrezo, J.-L., and Favez, O.: Comparison of PM₁₀ Sources profiles at 15 French sites using a harmonized constrained positive matrix factorization approach, *Atmosphere*, 10, 310, <https://doi.org/10.3390/atmos10060310>, 2019.
- Wéry, N., Galès, A., and Brunet, Y.: Bioaerosol sources, in *Microbiology of Aerosols*, John Wiley & Sons, Ltd., 115–135, <https://doi.org/10.1002/9781119132318>, 2017.
- Whipps, J. M., Hand, P., Pink, D., and Bending, G. D.: Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype, *J. Appl. Microbiol.*, 105, 1744–1755, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03906.x>, 2008.
- Xiao, M., Wang, Q., Qin, X., Yu, G., and Deng, C.: Composition, sources, and distribution of PM_{2.5} saccharides in a coastal urban site of China, *Atmosphere*, 9, 274, <https://doi.org/10.3390/atmos9070274>, 2018.
- Xu, J., He, J., Xu, H., Ji, D., Snape, C., Yu, H., Jia, C., Wang, C., and Gao, J.: Simultaneous measurement of multiple organic tracers in fine aerosols from biomass burning and fungal spores by HPLC-MS/MS, *RSC. Adv.*, 8, 34136–34150, <https://doi.org/10.1039/C8RA04991B>, 2018.
- Yan, C., Sullivan, A. P., Cheng, Y., Zheng, M., Zhang, Y., Zhu, T., and Collett, J. L.: Characterization of saccharides and associated usage in determining biogenic and biomass burning aerosols in atmospheric fine particulate matter in the north China Plain, *Sci. Total Environ.*, 650, 2939–2950, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.325>, 2019.
- Yan, K., Park, T., Yan, G., Chen, C., Yang, B., Liu, Z., Nemani, R., Knyazikhin, Y., and Myneni, R.: Evaluation of MODIS LAI/FPAR product collection 6: part 1: consistency and improvements, *Remote Sens.*, 8, 359, <https://doi.org/10.3390/rs8050359>, 2016a.
- Yan, K., Park, T., Yan, G., Liu, Z., Yang, B., Chen, C., Nemani, R., Knyazikhin, Y., and Myneni, R.: Evaluation of MODIS LAI/FPAR product collection 6: part 2: validation and intercomparison, *Remote Sens.*, 8, 460, <https://doi.org/10.3390/rs8060460>, 2016b.
- Yttri, K. E., Dye, C., and Kiss, G.: Ambient aerosol concentrations of sugars and sugar-alcohols at four different sites in Norway, *Atmos. Chem. Phys.*, 7, 4267–4279, <https://doi.org/10.5194/acp-7-4267-2007>, 2007.
- Yttri, K. E., Simpson, D., Stenström, K., Puxbaum, H., and Svendby, T.: Source apportionment of the carbonaceous aerosol in Norway – quantitative estimates based on ¹⁴C, thermal-optical and organic tracer analysis, *Atmos. Chem. Phys.*, 11, 9375–9394, <https://doi.org/10.5194/acp-11-9375-2011>, 2011a.
- Yttri, K. E., Simpson, D., Nøjgaard, J. K., Kristensen, K., Genberg, J., Stenström, K., Swietlicki, E., Hillamo, R., Aurela, M., Bauer, H., Offenberg, J. H., Jaoui, M., Dye, C., Eckhardt, S., Burkhardt, J. F., Stohl, A., and Glasius, M.: Source apportionment of the summer time carbonaceous aerosol at Nordic rural background sites, *Atmos. Chem. Phys.*, 11, 13339–13357, <https://doi.org/10.5194/acp-11-13339-2011>, 2011b.
- Yue, S., Ren, H., Fan, S., Wei, L., Zhao, J., Bao, M., Hou, S., Zhan, J., Zhao, W., Ren, L., Kang, M., Li, L., Zhang, Y., Sun, Y., Wang, Z., and Fu, P.: High abundance of fluorescent biological aerosol particles in winter in Beijing, China, *ACS Earth Space Chem.*, 1, 493–502, <https://doi.org/10.1021/acsearthspacechem.7b00062>, 2017.
- Zamfir, M., Gerstner, D. G., Walsler, S. M., Bünger, J., Eikmann, T., Heinze, S., Kolk, A., Nowak, D., Raulf, M., Sargsunski, H., Sedlmaier, N., Suchenwirth, R., Wiesmüller, G. A., Wollin, K.-M., Tesseraux, I., and Herr, C. E. W.: A systematic review of experimental animal studies on microbial bioaerosols: Dose-response data for the derivation of exposure limits, *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 222, 249–259, <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.11.004>, 2019.
- Zhang, T., Engling, G., Chan, C.-Y., Zhang, Y.-N., Zhang, Z.-S., Lin, M., Sang, X.-F., Li, Y. D., and Li, Y.-S.: Contribution of fungal spores to particulate matter in a tropical rainforest, *Environ. Res. Lett.*, 5, 024010, <https://doi.org/10.1088/1748-9326/5/2/024010>, 2010.
- Zhang, Z., Engling, G., Zhang, L., Kawamura, K., Yang, Y., Tao, J., Zhang, R., Chan, C., and Li, Y.: Significant influence of fungi on coarse carbonaceous and potassium aerosols in a tropical rainforest, *Environ. Res. Lett.*, 10, 034015, <https://doi.org/10.1088/1748-9326/10/3/034015>, 2015.
- Zhu, C., Kawamura, K., and Kunwar, B.: Organic tracers of primary biological aerosol particles at subtropical Okinawa Island in the western North Pacific Rim: organic biomarkers in the north pacific, *J. Geophys. Res.-Atmos.*, 120, 5504–5523, 2015.
- Zhu, W., Luo, L., Cheng, Z., Yan, N., Lou, S., and Ma, Y.: Characteristics and contributions of biogenic secondary organic aerosol tracers to PM_{2.5} in Shanghai, China, *Atmos. Pollut. Res.*, 9, 179–188, <https://doi.org/10.1016/j.apr.2017.09.001>, 2018a.
- Zhu, W., Cheng, Z., Luo, L., Lou, S., Ma, Y., and Yan, N.: Investigation of fungal spore characteristics in PM_{2.5} through organic tracers in Shanghai, China, *Atmos. Pollut. Res.*, 9, 894–900, <https://doi.org/10.1016/j.apr.2018.01.009>, 2018b.

Supplementary information

(<https://www.atmos-chem-phys.net/19/11013/2019/acp-19-11013-2019-supplement.pdf>)

1 Section 1: supplementary illustrations

Table SI 1: Characteristics of selected sites and data available.

Sampling sites	Typology	Campaign periods	Long	Lat	Alt (m)	Data available
Grenoble_LF	Urban ^a	02/2012-03/2018	5.74	45.16	214	Polyols, glucose, cellulose, LAI
Grenoble_CB	Urban ^a	02/2017-03/2018	5.73	45.18	212	Polyols, glucose, LAI
Grenoble_VIF	Urban ^a	02/2017-03/2018	5.68	45.06	310	Polyols, glucose, cellulose, LAI
Passy	Urban ^a	11/2013-04/2015	6.71	45.92	588	Polyols, glucose, LAI, weather conditions
Marnaz	Urban ^a	07/2013-04/2015	6.53	46.06	504	Polyols, glucose, LAI, weather conditions
Chamonix	Urban ^a	11/2013-10/2014	7.05	45.92	1035	Polyols, glucose, LAI, weather conditions
Marseille	Urban	06/2014-12/2017	5.39	43.30	64	Polyols, glucose
Mallet	Urban	06/2014-06/2015	5.50	43.47	200	Polyols, glucose
Gardanne	Urban	07/2015-07/2016	5.47	43.45	214	Polyols, glucose
Meyreuil	Urban	01/2015-01/2016	5.50	43.47	235	Polyols, glucose
Port-de-Bouc	Urban	06/2014-12/2017	4.98	43.40	1	Polyols, glucose
Nice	Urban	06/2014-12/2016	7.28	43.70	9	Polyols, glucose
Rouen	Urban	01/2013-06/2014	1.08	49.44	6	Polyols, glucose
Roubaix	Traffic	01/2013-05/2014	3.18	50.71	10	Polyols, glucose
Nogent-sur-Oise	Sub-urban ^b	01/2013-12/2017	2.48	49.28	30	Polyols
OPE-ANDRA	Rural ^b	02/2012-12/2017	5.17	48.54	293	Polyols, glucose, LAI, weather conditions, agricultural activities records, cellulose

Symbols ^(a) stand for urban background sites located in the French Alp valley environment whereas symbols ^(b) outline background sites surrounded by crop field areas. Leaf Area Index (LAI) is a proxy of vegetation density evolution. Polyols are defined as the sum of mannitol and arabitol concentrations. Here, the term polyols is used refer to the sum of arabitol and mannitol concentrations.

Table SI 2: Annual average values \pm standard deviation of aerosol chemical data at each site (concentrations in ng m^{-3}).

Sampling sites	Polyols	Ratio mannitol-to-arabitol	Glucose	Ratio glucose-to-polyols
Grenoble_LF	41.2 \pm 39.9	1.24 \pm 0.36	26.8 \pm 19.7	0.93 \pm 0.63
Grenoble_CB	43.5 \pm 41.9	1.07 \pm 0.32	29.0 \pm 22.6	0.94 \pm 0.57
Grenoble_VIF	47.0 \pm 48.8	1.11 \pm 0.41	30.5 \pm 26.2	0.92 \pm 0.56
Passy	37.0 \pm 23.2	0.94 \pm 0.34	23.1 \pm 13.3	0.70 \pm 0.31
Marnaz	54.5 \pm 42.6	1.03 \pm 0.39	33.2 \pm 23.3	0.72 \pm 0.34
Chamonix	38.0 \pm 28.0	1.08 \pm 0.31	20.0 \pm 11.9	0.73 \pm 0.54
Marseille	26.1 \pm 22.9	1.13 \pm 0.34	21.2 \pm 15.8	0.91 \pm 0.45
Mallet	42.5 \pm 31.5	0.99 \pm 0.36	27.9 \pm 17.4	0.66 \pm 0.25
Gardanne	27.8 \pm 20.8	0.98 \pm 0.26	17.5 \pm 10.6	0.72 \pm 0.32
Meyreuil	27.8 \pm 15.4	0.94 \pm 0.32	17.6 \pm 10.1	0.67 \pm 0.28
Port-de-Bouc	21.1 \pm 17.7	1.03 \pm 0.37	14.4 \pm 13.5	0.78 \pm 0.49
Nice	37.6 \pm 36.5	1.14 \pm 0.40	24.5 \pm 23.4	0.69 \pm 0.35
Rouen	23.8 \pm 34.2	1.27 \pm 0.71	8.6 \pm 11.1	0.52 \pm 0.50
Roubaix	18.8 \pm 22.2	1.67 \pm 0.89	8.6 \pm 8.6	0.72 \pm 0.83
Nogent-sur-Oise	43.8 \pm 42.9	1.53 \pm 0.54	N/A	N/A
OPE-ANDRA	58.7 \pm 90.4	1.01 \pm 0.47	31.2 \pm 32.6	0.86 \pm 0.69

N/A: not available.

Table SI 3: Normalized cross-correlation coefficients (R) for sugar compounds and ratios between pairs of sites considering the sampling periods in common.

Pairs of sampling sites	Inter-site distance (Km)	Number of samples	Time periods	Arabitol vs Mannitol	Ratios Mannitol-to-Arabitol	Glucose vs Polyols	Ratios Glucose to Polyols
Grenoble_CB vs Grenoble_LF	2.5	125	02/2017-03/2018	0.967	0.988	0.973	0.968
Grenoble_LF vs Grenoble_VIF	12.4	125	02/2017-03/2018	0.962	0.963	0.957	0.985
Grenoble_CB vs Grenoble_VIF	14.4	127	02/2017-03/2018	0.930	0.982	0.930	0.968
Passy vs Chamonix	12.1	112	11/2013-10/2014	0.946	0.938	0.934	0.885
Marnaz vs Passy	20.4	159	11/2013-04/2015	0.951	0.918	0.938	0.935
Marnaz vs Chamonix	30.0	112	11/2013-10/2014	0.927	0.926	0.890	0.888
Marseille vs Gardanne	17.5	79	07/2015-07/2016	0.891	0.907	0.877	0.876
Marseille vs Mallet	20.1	79	06/2014-06/2015	0.829	0.717	0.862	0.843
Marseille vs Meyreuil	20.7	76	01/2015-01/2016	0.665	0.804	0.786	0.779
Marseille vs Port-de-Bouc	35.1	277	06/2014-12/2017	0.788	0.764	0.723	0.790
Grenoble_LF vs Marnaz	117.4	201	07/2013-04/2015	0.765	0.797	0.825	0.899
Nice vs Port-de-Bouc	188.7	218	06/2014-12/2017	0.723	0.678	0.713	0.530
Roubaix vs Rouen	205.4	154	01/2013-05/2014	0.635	0.659	0.474	0.440
Nogent-sur-Oise vs OPE-ANDRA	230.1	253	01/2013-12/2017	0.754	0.790	N/A	N/A
Grenoble_LF vs Marseille	270.1	240	06/2014-12/2017	0.438	0.309	0.344	0.419
Grenoble_LF vs OPE-ANDRA	374.9	297	02/2012-12/2017	0.390	0.234	0.275	0.394
Marseille vs OPE-ANDRA	581.0	194	06/2014-12/2017	0.307	0.180	0.124	0.236

N/A: not available.

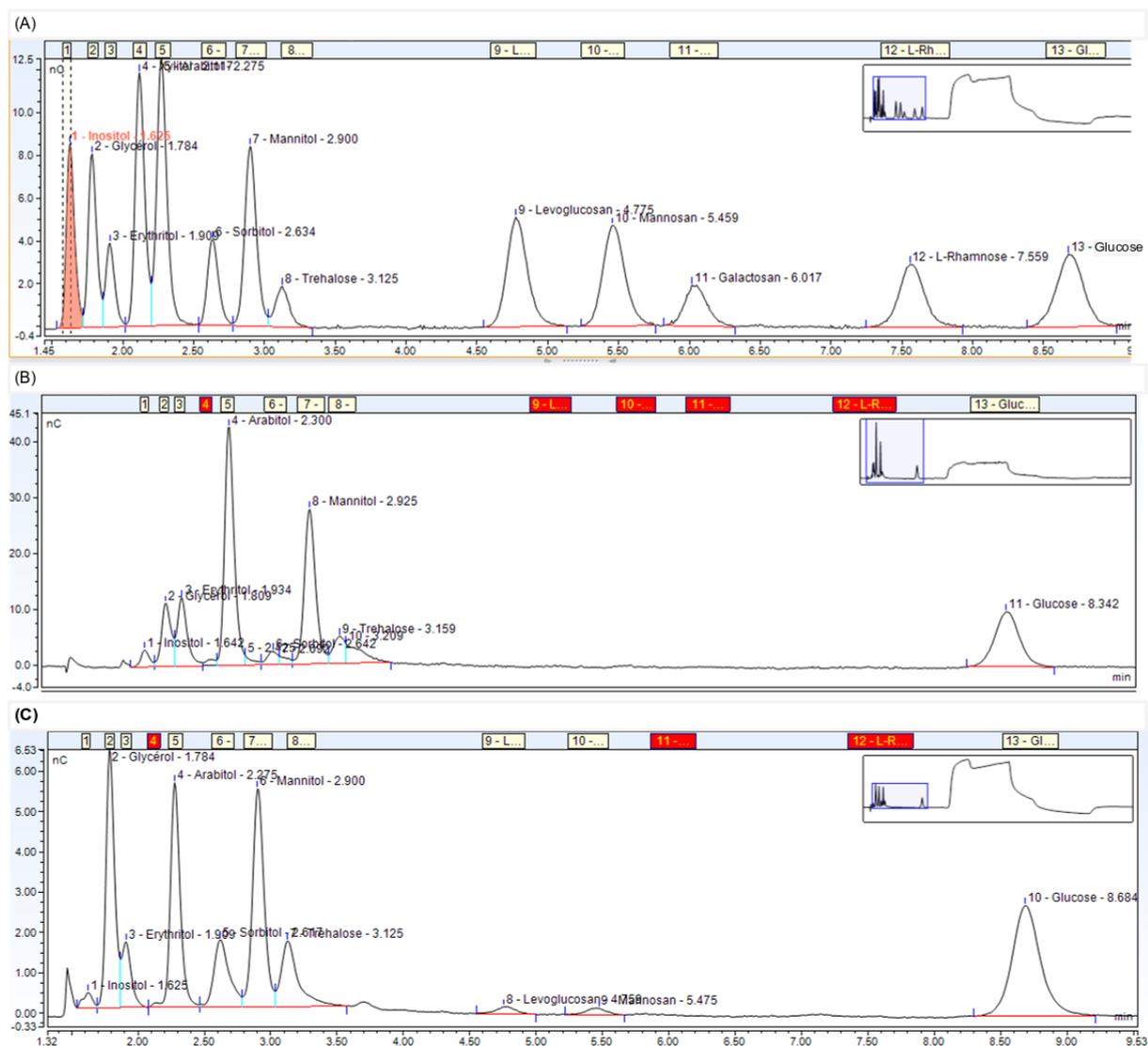


Figure SI 1: Examples of raw chromatograms obtained for the analysis of sugar compounds in PM₁₀ analyzed by high performance liquid chromatography coupled with pulsed amperometric detection (HPLC-PAD). HPLC-PAD chromatograms of a standard sugar compounds (A) and an extract from the ambient PM samples collected at the sites of Meyreuil ((B) and OPE-ANDRA (C), respectively.

Table SI 4: Concentrations of individual sugar compounds in the standard solution and atmospheric PM samples. LD and LQ denote respectively detection and quantification limits.

	Inositol	Glycerol	Erythritol	Arabitol	Sorbitol	Mannitol	Levoglucosan	Mannosan	Galactosan	Glucose
	(ppb)									
Standard	100.2	250.2	750	249.5	99.5	253.2	1246.2	250.7	99.3	250.5
Meyreuil	4.9	136.8	326.6	108.4	51.3	104.7	43.4	8.2	<LD	201.4
OPE-ANDRA	36.2	257.6	2415.2	752.9	47.3	610.3	<LD	<LD	<LD	598.7
	(ng m ⁻³)									
Meyreuil	1.2	<LQ	81.9	27.2	12.9	26.3	10.9	2.1	<LD	50.5
OPE-ANDRA	5.2	37.2	348.4	108.6	6.8	88.0	<LD	<LD	<LD	86.4

The quality of the multiple linear regression model (linearity of the data, normality of residuals, homogeneity of residuals variance, independence of residuals error terms) was checked through several diagnostic plots:

- Figure SI 2 A shows the residuals vs fitted values, which did not exhibit any significant pattern. Therefore a linearity relationship between log (polyols ± glucose) and the predictor variables can be assumed.
- In Figure SI 2B, the model residuals are correctly fitted with a straight line, indicative of a normal distribution.
- As evidenced in Figure SI 2C (Scale-Location plot), squared residuals are quite randomly distributed along the range of predictor variables. Thus the variance of the residuals is considered homogeneous.
- Finally, Figure SI 2D was used to examine the potential influential points (outliers or high-leverage points). Cook's distance (highlighted by the red dashed lines) measures the effect of deleting an extreme observation. Since numbered points are within Cook's distance scores (standardized residuals are also below 3), they are not considered as influencing the regression analysis.

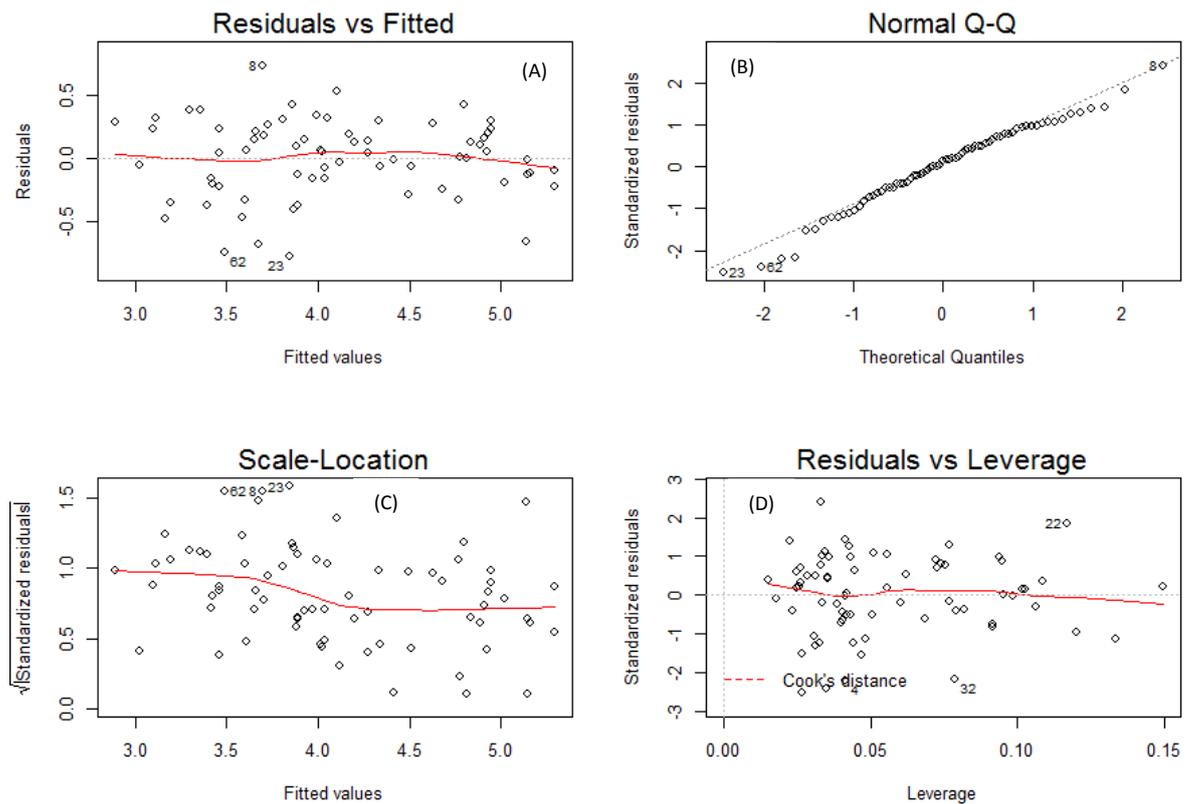


Figure SI 2: Diagnostic plots for the multiple linear regression analysis. The red solid lines are smoothed curves for detecting potential patterns.

Multicollinearity between the predictor variables was evaluated using variance inflation factors (VIF). These were performed using the *vif* function implemented in the open-access “*car package in R*” (Fox and Weisberg, 2018). Collinearity was not found to be a problem in our multiple regression analysis because all VIF values were less than ten for all predictor variables (Zuur et al., 2010).

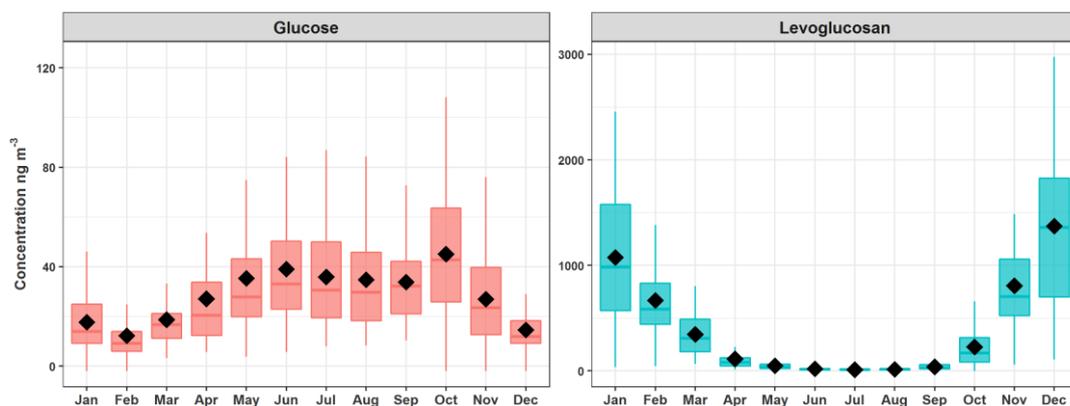


Figure SI 3: Annual evolution cycles of the glucose (left) and levoglucosan (right) concentrations in PM10 measured at the urban site of Grenoble Les Frênes, from the years 2012 to 2018. The black marker inside each boxplot indicates the average value, while the top, middle and bottom of the box represent the 75th, median and 25th percentiles, respectively. The whiskers at the top and bottom of the box extend from the 95th to the 5th percentiles.

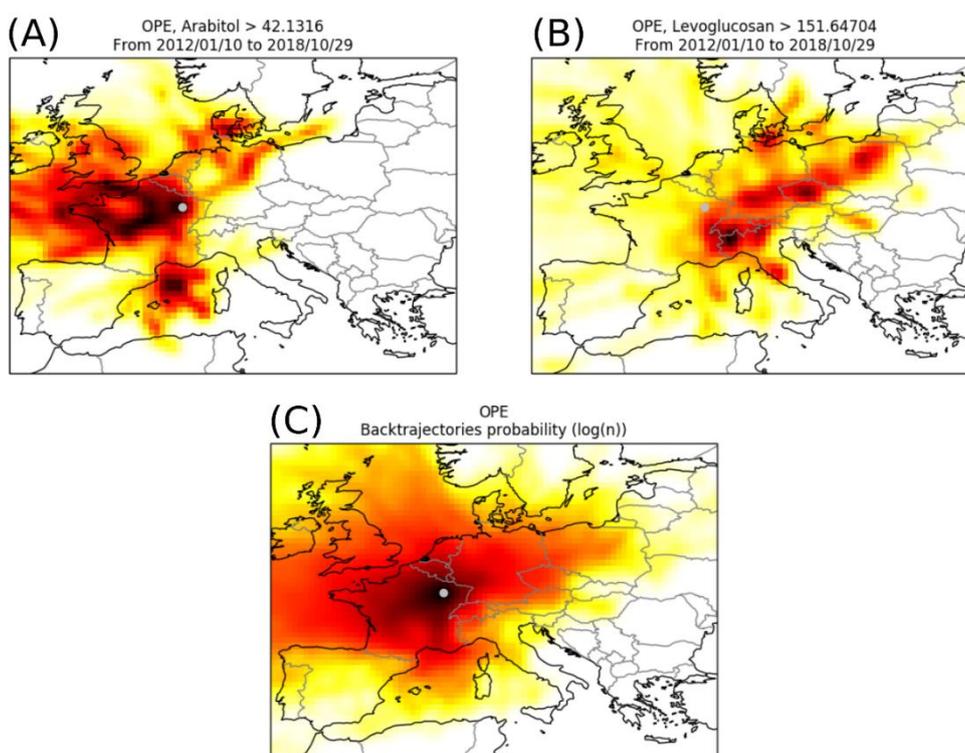


Figure SI 4: PSCF analysis for the OPE site (using pyPSCF and HYSPLIT). A) Back-trajectories associated with arabitol concentrations higher than the 75th percentile divided by the number of back-trajectories. C) Displays all the back-trajectories. The color scale indicated the probability that the specie comes from this cell (the darker color indicate higher probability).

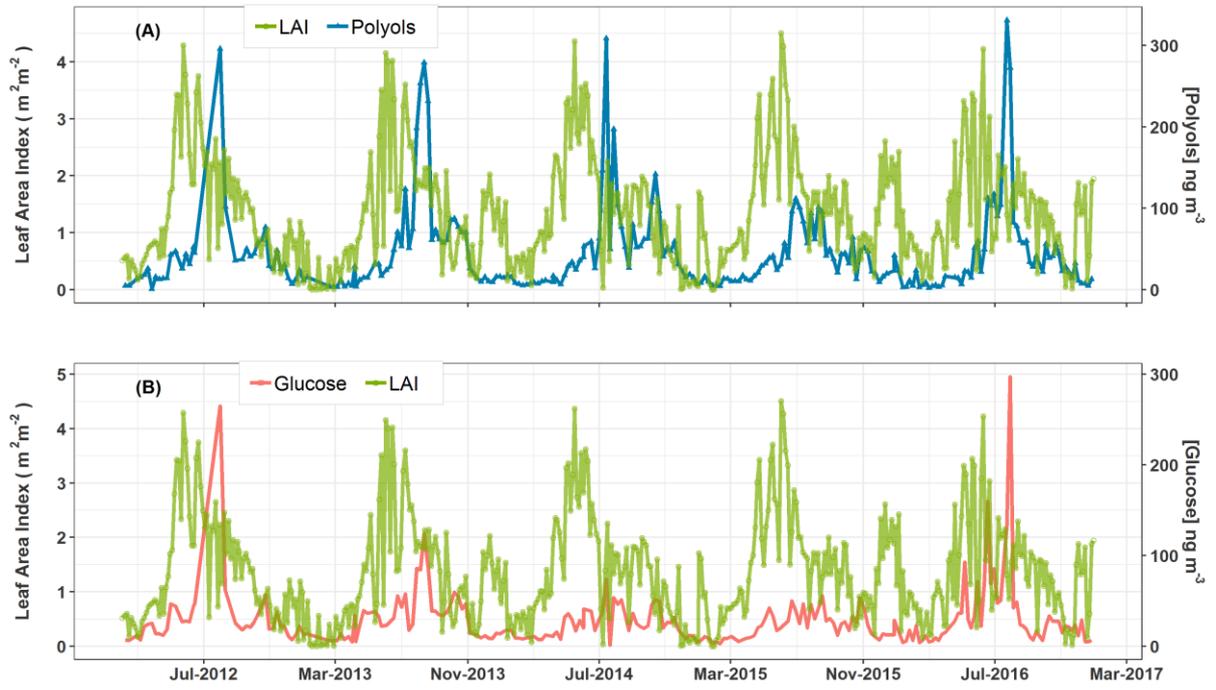


Figure SI 5: Covariation cycles of the daily concentrations of polyols (A) and glucose (B) and vegetation density (LAI) at OPE-ANDRA, from 2012 to 2016.

2 Section 2: Analysis of ambient particulate cellulose concentration

The analytical protocol is resumed below. A punch of 21 mm from a PM₁₀ quartz filter sample is sonicated for 40 min in 3 mL of a 0.05 M acetate buffer (pH=4.8) in Milli-Q water containing 0.05% of thymol. 20 µL of the purified and diluted cellulase (70 u/g) and 60 µL of the diluted glucosidase (5 u/g) are added to the solution which is then incubated for 24 hours at 45 °C for the hydrolysis to occur. Enzymatic activity is stopped at the end of this step by heating the sample at 100°C for 45 minutes. After cooling down to room temperature, the sample is centrifuged for 10 minutes at 7,000 RPM and filtered through a 0.22 µm polyether sulfone membrane for the analysis of the glucose content using HPLC-PAD.

Since cellulase is the main contributor to the level of glucose in the blanks, this enzyme initial solution is purified by ultra-filtration at 15°C on a porous membrane of polyether sulfone (Hydrosart®, 2000 MWCO). Ten consecutive steps of ultra-filtration at 7,000 RPM in Vivaspin-15R tubes are needed to reduce the content of glucose in the blanks to an acceptable level (< 10 µg L⁻¹ in analytical solutions). At the end of filtration, cellulase is diluted 10 times in Milli-Q water.

For each analytical batch, standard aqueous solutions of cellulose (microbeads of pure cellulose 20µm, Sigma Aldrich) are hydrolyzed in parallel under the same conditions in order to determine the conversion yield of cellulose. Although variable depending on the batch, it is generally in the range 65 – 80 %. Each analytical batch is then composed of glucose standards, hydrolyzed cellulose standards, hydrolyzed samples and hydrolyzed blanks filters. The final calculation of the atmospheric concentration of the free cellulose takes into account the conversion efficiency of cellulose, the cellulose on blank filters, and the initial concentrations of atmospheric glucose of each sample, determined in parallel using a similar HPLC-PAD technique (Waked et al., 2014).

The HPLC-PAD is composed of an AS50 autosampler, a LC30 oven, a GP40 pump and an ED50 detector (all from Dionex) working in the pulsed amperometric detection mode with a gold working electrode and an Ag/AgCl reference electrode. The analyses are performed on Dionex CarboPac PA1 columns (4 × 250 mm – analytical; 4 × 50 mm – guard), under gradient elution conditions (Table S4) at 30 °C. The mobile phase is made of sodium hydroxide and sodium acetate in Milli-Q water, at a flow rate of 1.1 mL min⁻¹. The waveform program applied to the detector is illustrated in **Erreur ! Source du renvoi introuvable..**

Table S7: Gradient operating conditions used for HPLC-PAD.

Time (min)	Flow rate (mL min ⁻¹)	NaOH: 18 mM	NaOH: 200 mM	NaOH: 100 mM NaAc: 150 mM
0	1.1	100 %	-	-
10	1.1	100 %	-	-
16	1.1	70 %	30 %	-
18	1.1	6 %	82 %	12 %
21	1.1	-	-	100 %
23.5	1.1	-	-	100 %
24	1.1	-	100 %	-
27	1.1	-	100 %	-
28	1.5	100 %	-	-
39.5	1.1	100 %	-	-

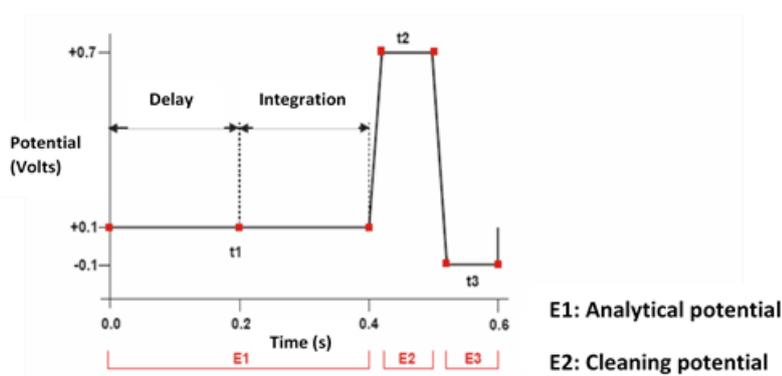


Figure SI 6: Example of the applied waveform program.

References

Fox, J. and Weisberg, S.: Regression diagnostics for linear, generalized linear, and mixed-effects models, in *An R Companion to Applied Regression*, pp. 385–477, SAGE Publications. Available from: <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/index.html>, 2018.

Waked, A., Favez, O., Alleman, L. Y., Piot, C., Petit, J.-E., Delaunay, T., Verlinden, E., Golly, B., Besombes, J.-L., Jaffrezo, J.-L., and Leoz-Garziandia, E.: Source apportionment of PM₁₀ in a north-western Europe regional urban background site (Lens, France) using positive matrix factorization and including primary biogenic emissions, *Atmos. Chem. Phys.*, 14(7), 3325–3346, doi:10.5194/acp-14-3325-2014, 2014.

Zuur, A. F., Ieno, E. N., and Elphick, C. S.: A protocol for data exploration to avoid common statistical problems: data exploration, *Methods Ecol. Evol.*, 1(1), 3–14, doi:10.1111/j.2041-210X.2009.00001.x, 2010.

Chapitre 5 : Caractérisation de l'origine biogénique et identification des communautés microbiennes atmosphériques qui déterminent les évolutions temporelles et spatiales des concentrations atmosphériques en sucres primaires.....	179
Préambule.....	180
Part 1 (Article 4): High levels of Primary Biogenic Organic Aerosols in the atmosphere in summer are driven by only a few microorganisms from the leaves of surrounding plants.....	182
Abstract	184
Introduction	185
Results	186
Discussion	193
Limits and perspectives of our study.....	197
Material and methods	197
Supplementary Materials.....	202
Partie 2 : Répétabilité, tendances spatiales et origine biogénique des communautés microbiennes qui contrôlent les émissions sucres primaires particulières vers l'atmosphère	216
1 Contexte	217
2 Analyses des données :.....	218
3 Comparaison des résultats des campagnes d'été 2017 et 2018 sur le site de l'OPE-ANDRA....	219
3.1 Concentrations des sucres primaires détectés.....	219
3.2 Comparaison de la richesse et la diversité en MOTUs (Molecular Operational Taxonomic Unit) des communautés microbiennes entre les deux campagnes.....	220
3.3 Biodiversité microbienne dans les PM ₁₀ collectées pendant l'été 2018	222
3.3.1 Biodiversité fongique	222
3.3.2 Biodiversité bactérienne	223
3.4 Comparaison statistique de la biodiversité entre les deux campagnes	225
3.5 Lien entre l'abondance des communautés microbiennes présentes dans l'atmosphère et la concentration des sucres primaires dans les PM ₁₀ pendant l'été 2018.....	227
4 Comparaison de la composition des communautés microbiennes des aérosols sur 3 sites distincts	229
4.1 Profils taxonomiques de communautés microbiennes associées aux évolutions temporelles des concentrations en sucres primaires dans les PM ₁₀ des sites de Grenoble et Marseille :.....	233
5 Conclusions et perspectives :.....	235

Chapitre 5: Caractérisation de l'origine biogénique et identification des communautés microbiennes atmosphériques qui déterminent les évolutions temporelles et spatiales des concentrations atmosphériques en sucres primaires

Préambule

Dans les chapitres précédents, nous avons établi une empreinte chimique associée aux PBOAs et estimé de manière robuste leur contribution à la masse de matière organique dans les PM₁₀ en France. Une des constatations marquantes sur les profils de sources de PM₁₀ est que les PBOAs constituent une fraction très importante de la masse de MO atmosphérique. Ainsi, à l'échelle annuelle, ils contribuent en moyenne massique à 13 ± 4 % de la matière particulaire dans les PM₁₀ en France. En période estivale, cette contribution peut augmenter jusqu'à 40% pour certains sites en région alpine.

Nous avons également pu voir dans le chapitre précédent que les sucres primaires sont des marqueurs moléculaires des PBOAs et montrent une nette saisonnalité avec les plus fortes concentrations observées en période estivale (été-automne). Comme déjà évoqué dans le Chapitre 1, certains sucres primaires jouent un rôle biologique important pour les (micro)organismes et peuvent agir comme des osmolytes permettant à ces organismes de survivre aux conditions extrêmes environnementales (ex., stress hydrique et salin, forte température, etc.) (Medeiros et al., 2006). Les concentrations en sucres primaires dans ces (micro)organismes varient donc fortement suivant les conditions climatiques. Les stress ainsi induits pourraient expliquer, au moins en partie, les variations des teneurs en sucres primaires dans les PM atmosphériques, bien qu'aucune étude ne l'ait démontré jusqu'à présent.

Par ailleurs, nous avons également vu dans le chapitre précédent que les concentrations et ratios entre sucres primaires particulaires indiquent des variabilités spatiales et temporelles non aléatoires. Les évolutions journalières de leurs concentrations sont remarquablement similaires entre sites localisés dans la même région géographique (distants d'environ 200 km). Cette grande homogénéité spatiale et temporelle (i.e., synchronisation des périodes de début et de fin d'augmentation des concentrations, croissance similaire du signal, simultanéité d'épisodes spécifique, etc.) souligne très certainement une grande homogénéité des sources et des processus d'émission et d'abattement à l'échelle régionale.

D'autre part, nous avons montré qu'au contraire ces évolutions sont décorrélées entre des sites localisés dans des régions climatiques distinctes, laissant penser à des flux d'émissions étroitement liés à des variables géographiques (climat, densité ou type végétation, etc.). Ainsi, l'identification des communautés atmosphériques (bactéries et champignons) liées aux niveaux de concentrations des sucres primaires dans l'atmosphère sous différentes conditions géographiques et climatiques semble être un verrou important pour une meilleure compréhension des processus d'émissions des sucres primaires particulaires dans l'atmosphère, mais aussi pour identifier leurs origines biogéniques.

Nos travaux ont permis de mettre en évidence pour la première fois, à notre connaissance, une dynamique spatiale de la concentration des sucres primaires particulaires et de caractériser les paramètres environnementaux qui déterminent leurs niveaux de concentrations dans l'air. Malgré ce bilan très positif, des interrogations demeurent sur la structure des communautés microbiennes atmosphériques qui déterminent les évolutions journalières et spatiales des concentrations des sucres primaires dans les PM₁₀. C'est dans ce contexte que s'inscrivent les travaux présentés dans ce chapitre

qui visent à mieux comprendre le rôle et l'origine des microorganismes impliqués dans l'émission de sucres primaires particulaires vers l'atmosphère. Plus précisément les enjeux de ce chapitre étaient de :

- Caractériser les communautés de microorganismes atmosphériques qui contrôlent les variabilités journalières de la concentration des sucres primaires particulaires.
- Identifier l'origine principale des microorganismes qui déterminent le niveau de concentrations atmosphériques en sucres primaires particulaires.
- Évaluer la variabilité spatiale des communautés microbiennes impliquées dans les émissions de sucres primaires particulaires sur des sites d'études diversifiés en termes de typologies et de conditions (géo)climatiques.

La stratégie retenue pour ce travail est basée sur le couplage de campagnes intensives d'échantillonnage de PM, de sols et de plantes et d'analyses au laboratoire pour la caractérisation chimique et microbiologique détaillée des échantillons collectés. Un travail central de cette thèse a ainsi porté sur le développement d'une stratégie permettant d'étudier de façon simultanée et complémentaire les caractéristiques chimiques et microbiologiques des PM₁₀ collectées sur filtres, des sols superficiels environnants et de feuilles des plantes dominantes autour du site d'échantillonnage. Cette approche interdisciplinaire est assez novatrice et apporte de nouvelles données indispensables à la compréhension des dynamiques spatio-temporelles des PBOAs.

Ce chapitre est structuré en deux parties :

- (i) La première partie est basée sur les résultats d'une campagne intensive d'échantillonnage réalisée lors de l'été 2017 sur le site d'étude de l'observatoire pérenne de l'environnement (OPE-ANDRA). La période d'été a été choisie car elle correspond aux maxima annuels de concentrations de sucres primaires particulaires dans l'atmosphère, ce qui permet d'assurer une caractérisation exhaustive de la spéciation chimique de ces espèces et d'étudier les processus par lesquels elles se retrouvent dans l'atmosphère. Cette première partie tente de répondre aux deux premiers objectifs du chapitre. Elle sera présentée sous la forme d'un article scientifique soumis dans la revue « *Science Advances* » en juin 2019.
- (ii) La deuxième partie de ce travail est basée sur les résultats d'une deuxième campagne intensive d'échantillonnage menée sur plusieurs sites spécifiques et réalisée lors de l'été 2018. Son objectif premier était de tester la reproductibilité des résultats obtenus lors de la première campagne et d'évaluer la robustesse des conclusions tirées. Dans cette deuxième partie nous tentons également de répondre au dernier objectif du Chapitre 5.

Part 1 (Article 4): High levels of Primary Biogenic Organic Aerosols in the atmosphere in summer are driven by only a few microorganisms from the leaves of surrounding plants

Version submitted on June 21, 2019, under review for publication in Science Advances.

High levels of Primary Biogenic Organic Aerosols in the atmosphere in summer are driven by only a few microorganisms from the leaves of surrounding plants

Abdoulaye Samaké¹, Aurélie Bonin², Jean-Luc Jaffrezo¹, Pierre Taberlet², Gaëlle Uzu¹, Véronique Jacob¹, Sébastien Conil³, Samuël Weber¹, Jean M. F. Martins^{1*}

¹University Grenoble Alpes, CNRS, IRD, INP-G, IGE (UMR 5001), 38000 Grenoble, France

²University Grenoble Alpes, CNRS, LECA (UMR 5553), BP 53, 38041 Grenoble, France

³ANDRA DRD/OPE Observatoire Pérenne de l'Environnement, 55290 Bure, France

* Corresponding author: jean.martins@univ-grenoble-alpes.fr

Abstract

Primary biogenic organic aerosols (PBOA) represent a major fraction of coarse organic matter (OM) in air. Despite their importance in atmospheric processes and human health problems, we know little about PBOA characteristics (composition, dominant sources, and contribution to airborne-particles). In addition, specific primary sugar compounds (SCs) are generally used as markers of PBOA associated with Bacteria and Fungi but our knowledge of microbial communities associated with atmospheric particulate matter (PM) remains incomplete. An intensive study was conducted on PM₁₀ (particles smaller than 10µm) collected at an agricultural site. The objective was to provide a comprehensive understanding of the microbial fingerprints associated with SCs in PM₁₀ and their main sources in the surrounding environment (soils and vegetation). We combined high-throughput sequencing of Bacteria and Fungi with detailed physicochemical characterization of PM₁₀, soils and plant samples, and monitored meteorology and agricultural activities throughout the sampling period. Results showed that in summer SCs in PM₁₀ represent a major fraction of OM in air, i.e. 0.8 to 13.5% of OM mass. SCs concentrations are clearly determined by the abundance of only a few specific airborne Fungi and Bacteria Taxa. Interestingly, SC-associated taxa in PM₁₀ come mainly from the surrounding vegetation and not from surrounding soils, which opens up interesting epidemiology perspectives.

Introduction

Airborne particulate matter (PM) is a complex mixture of microscopic solid particles and liquid droplets that are suspended in air (Boucher et al., 2013). PM is nowadays a subject of high scientific and political interests mainly because of its important effects on climate and public health (Boucher et al., 2013; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016). Numerous epidemiological studies have significantly related both acute and chronic exposures to ambient PM with respiratory impairments, heart diseases, asthma, lung cancer, as well as increased risk of mortality (Kelly and Fussell, 2015; Pope and Dockery, 2006). PM can also affect directly or indirectly the climate by absorbing and/or diffusing both the incoming and outgoing solar radiation (Boucher et al., 2013; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016). These effects are modulated by highly variable physical characteristics (e.g., size, specific surface, concentrations, etc.) and complex chemical composition of PM (Boucher et al., 2013; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016). PM consists of a complex mixture of inorganic, trace elements and carbonaceous matter (organic carbon and elemental carbon) (Boucher et al., 2013; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016). Organic matter (OM) is a major but poorly characterized constituent of PM (Boucher et al., 2013; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016). A quantitative understanding of OM sources is critically important to develop efficient guidelines for both air quality control and abatement strategies. So far, considerable efforts have been undertaken to investigate OM associated with anthropogenic and secondary sources, but much less is known about emissions from primary biogenic sources (Coz et al., 2010; Yan et al., 2019).

Primary biogenic organic aerosols (PBOAs) are a subset of organic PM that are directly emitted by processes involving the biosphere (Boucher et al., 2013; Elbert et al., 2007). PBOAs refer typically to biologically derived materials, notably including living organisms (Bacteria, fungal spores, Protozoa, viruses) and non-living biomass (e.g., microbial fragments) and other types of biological materials like pollen or plant debris (Amato et al., 2017; Elbert et al., 2007; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016). PBOAs are gaining increasing attention notably because of their ability to affect human health by causing infectious, toxic and hypersensitivity diseases (Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Lecours et al., 2017). To date, the precise role of PBOA components and interplay regarding mechanisms of diseases are remarkably misunderstood (Coz et al., 2010; Hill et al., 2017). Specific PBOA components can also participate in many relevant atmospheric processes like cloud condensation and ice nucleation, thereby directly or indirectly affecting the Earth's hydrological cycle and radiative balance (Boucher et al., 2013; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Hill et al., 2017). These diverse impacts are effective at a regional scale due to the transport of PBOAs (Dommergue et al., 2019; Yu et al., 2016). Moreover, PBOAs are a major component of OM found in particles less than 10 μm in aerodynamic diameter (PM_{10}) (Bozzetti et al., 2016; Coz et al., 2010; Samaké et al., 2019b). For instance, Bozzetti et al. (Bozzetti et al., 2016) have shown that PBOAs equal the contribution of secondary organic aerosols (SOAs) to OM in PM_{10} collected at a rural background site in Switzerland during both the summer and winter periods. However, current estimates of global terrestrial PBOA emissions are very uncertain and range between 50 and 1000 $\text{Tg}\cdot\text{y}^{-1}$ (Boucher et al., 2013; Coz et al., 2010; Elbert et al., 2007), underlining the critical gap in the understanding of this significant OM fraction.

The recent application of fluorescent technics such as ultraviolet aerodynamic particle sizer, wideband integrated bioaerosol sensor (Bozzetti et al., 2016; Gosselin et al., 2016; Huffman and Santarpia, 2017), or scanning electron microscopy (Coz et al., 2010) have revealed highly relevant information on the abundance and size partitioning of PBOAs. Atmospheric sources of PBOAs are numerous and include agricultural activities, leaf abrasion, and soil resuspension. (Coz et al., 2010; Medeiros et al., 2006; Pietrogrande et al., 2014). To date, the detailed constituents of PBOAs, their predominant sources and atmospheric emission processes as well as their contributions to total airborne particles remain poorly documented and quantified (Bozzetti et al., 2016; Coz et al., 2010; Elbert et al., 2007). Such information would be important for investigating the properties and atmospheric impacts of PBOAs as well as for a future optimization of source-resolved chemical transport models, which are still generally unable to accurately simulate important OM fractions (Ciarelli et al., 2016).

Primary sugar compounds (SC, defined as sugar alcohols and saccharides) are ubiquitous water-soluble compounds found in atmospheric PM (Gosselin et al., 2016; Medeiros et al., 2006; Pietrogrande et al., 2014; Jia et al., 2010). Specific SC species are extensively viewed as powerful markers for tracking sources and estimating

PBOA contributions to OM mass (Bauer et al., 2008; Gosselin et al., 2016; Jia et al., 2010; Medeiros et al., 2006). For example, glucose is the most common monosaccharide in vascular plants and it has been predominantly used as specific indicator of plant material (such as pollen or plant debris) from several areas around the world (Jia et al., 2010; Medeiros et al., 2006; Pietrogrande et al., 2014; Verma et al., 2018). Trehalose (aka mycose) is a common metabolite of various microorganisms, serving as an osmoprotectant accumulating in cells cytosol during harsh conditions (e.g., dehydration and heat) (Bougouffa et al., 2014). It has been proposed as a generic indicator of soil-borne microbiota (Jia et al., 2010; Medeiros et al., 2006; Pietrogrande et al., 2014; Verma et al., 2018). Similarly, mannitol and arabitol are two very common sugar alcohols (also called polyols) serving as storage and transport solutes in Fungi (Gosselin et al., 2016; Medeiros et al., 2006; Verma et al., 2018). Their atmospheric concentrations levels have frequently been used to investigate sources and contributions of PBOAs to OM mass in different environments (urban, rural, costal, and polar) around the world (Barbaro et al., 2015; Gosselin et al., 2016; Jia et al., 2010; Verma et al., 2018; Weber et al., 2018).

Despite the relatively vast literature using the atmospheric concentration levels of SC as suitable markers of PBOAs associated with Bacteria and Fungi, our understanding of airborne microbial communities (i.e., diversity and community composition) remains poor. This is due in particular to the absence of high-resolution (i.e., daily) data sets characterizing how well the variability of these microbial communities may be related to that of primary sugar species. Such information is of paramount importance to better understand the dominant atmospheric sources of SC (and then PBOAs) as well as their relevant effective environmental drivers, which are still poorly documented.

In this study, we present the first daily temporal concurrent characterization of ambient SC species concentrations and both bacterial and fungal community compositions for PM₁₀ collected at a rural background site located in an intensive agricultural area. The aim of this study was to use a DNA metabarcoding approach (Taberlet et al., 2018) to investigate PM₁₀-associated microbial communities, with the aim to address the following questions: (i) What are the diversity and composition of microbial communities associated with PM₁₀? (ii) Is the temporal dynamics of SC concentrations related to changes of the airborne microbial community compositions? (iii) What are the predominant sources of SC-associated microbial communities at a rural field site? Since soil and vegetation are currently believed to be the dominant sources of airborne microorganisms in most continental areas (Bowers et al., 2011), our study focused on these two potential sources.

Results

Primary sugar compounds (SC), and relative contributions to OM mass

Temporal dynamics of daily PM₁₀ carbonaceous components (e.g., primary sugar compounds, cellulose and OM) are presented in Figure 37. Nine SCs including seven polyols and two saccharide compounds have been quantified in all ambient PM₁₀ collected at the study site. Ambient SC concentration levels peaked on August 8th, 2017, in excellent agreement with the daily harvest activities around the study site (Figure 37A). The average concentrations of total SCs during the campaign are $259.8 \pm 253.8 \text{ ng.m}^{-3}$, with a range of 26.6 to 1,679.5 ng.m^{-3} , contributing on average to $5.7 \pm 3.2\%$ of total OM mass in PM₁₀, with a range of 0.8-13.5% (Figure 37B). The total measured polyols present average concentrations of $26.3 \pm 54.4 \text{ ng m}^{-3}$. Among all the measured polyols, arabitol ($67.4 \pm 83.1 \text{ ng.m}^{-3}$) and mannitol ($68.1 \pm 75.3 \text{ ng.m}^{-3}$) are the predominant species, followed in lesser amounts by sorbitol ($10.9 \pm 7.6 \text{ ng.m}^{-3}$), erythritol ($7.0 \pm 8.8 \text{ ng.m}^{-3}$), inositol ($2.3 \pm 2.0 \text{ ng.m}^{-3}$) and xylitol ($2.3 \pm 3.0 \text{ ng.m}^{-3}$). Glycerol was also observed in our samples, but with concentrations frequently below the quantification limit. The average concentrations of saccharide compounds are $51.2 \pm 45.0 \text{ ng.m}^{-3}$. Trehalose ($55.8 \pm 51.9 \text{ ng.m}^{-3}$) is the most abundant saccharide species, followed by glucose ($46.9 \pm 37.1 \text{ ng.m}^{-3}$). The average concentrations of calcium are $251.1 \pm 248.4 \text{ ng.m}^{-3}$.

A Spearman's rank correlation analysis based on the daily dynamics was used to examine the relationships between SC species. As shown in Table 8, sorbitol and inositol are well correlated linearly ($R = 0.57$, $p < 0.001$) (Table 1). Herein, sorbitol ($R = 0.59$, $p < 0.001$) and inositol ($R = 0.64$, $p < 0.001$) are significantly correlated to Ca²⁺. It has also to be noted that all other SC species are highly correlated with each other ($p < 0.001$) and that they are weakly correlated to the temporal dynamics of sorbitol and inositol (Table 8).

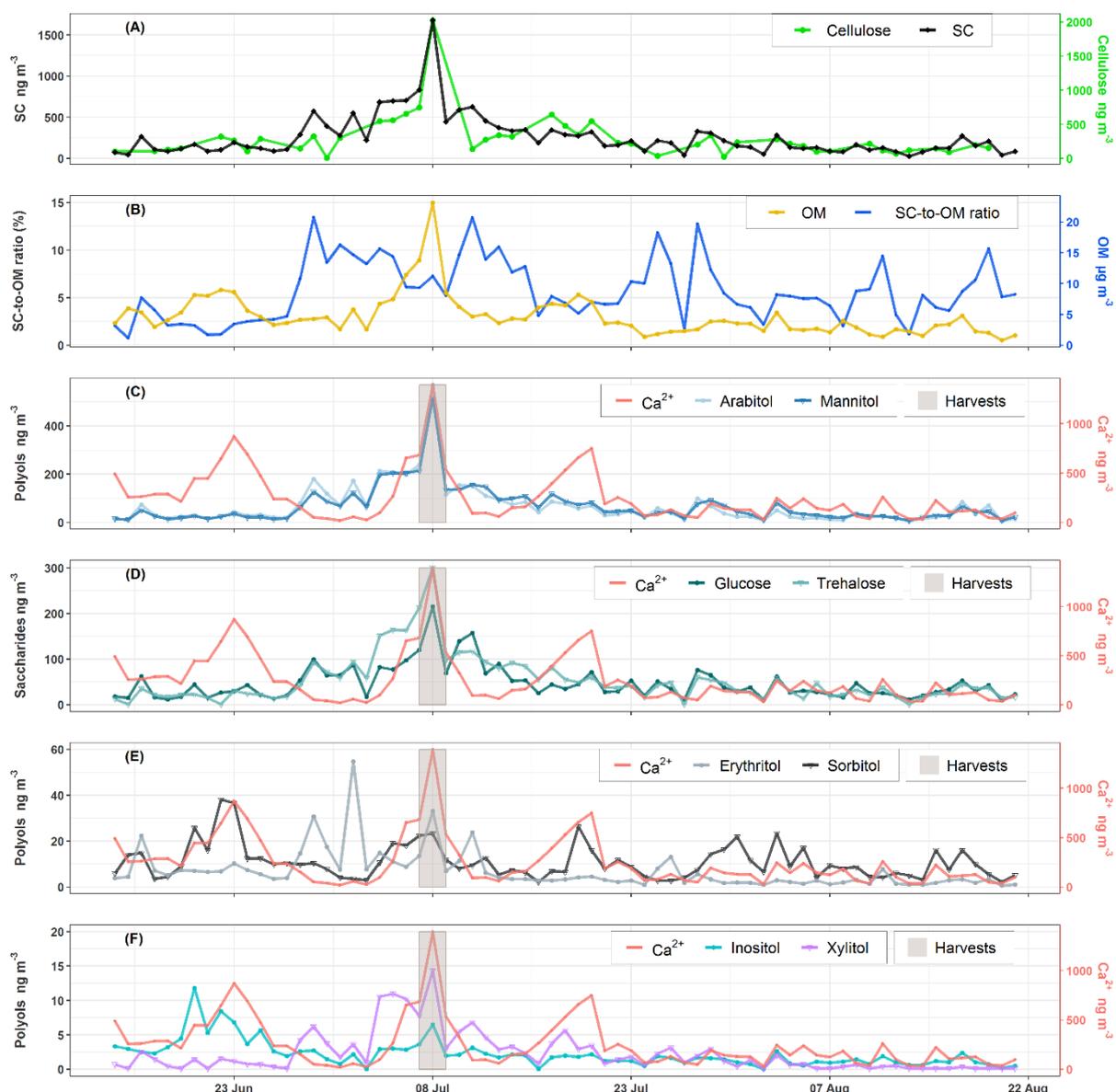


Figure 37: Ambient concentrations of carbonaceous components in PM₁₀. (A; C to F) Daily variations of SCs and calcium concentrations along with daily agricultural activities around the study site. (B) Contribution of SCs to organic matter mass. Results for nine-week daily measurements indicate that SCs are a major molecular component of OM, contributing between 0.8 to 13.5% to OM mass in summer. Glycerol is not presented because its concentration was generally below the quantification limit.

Table 8 : Relationships between SCs and calcium in PM₁₀ from the study site. Spearman's rank correlation analyses are based on the daily dynamics of chemicals species (n= 69).

	Arabitol	Mannitol	Glucose	Trehalose	Erythritol	Xylitol	Sorbitol	Inositol	Ca ²⁺
Arabitol	1.00								
Mannitol	0.94***	1.00							
Glucose	0.90***	0.90***	1.00						
Trehalose	0.93***	0.96***	0.87***	1.00					
Erythritol	0.69***	0.51***	0.57***	0.56***	1.00				
Xylitol	0.84***	0.84***	0.80***	0.79***	0.65***	1.00			
Sorbitol	0.22	0.26*	0.35**	0.15	0.21	0.24*	1.00		
Inositol	0.39**	0.24	0.34**	0.25*	0.71***	0.39**	0.57***	1.00	
Ca ²⁺	0.12	0.11	0.11	0.09	0.30*	0.27*	0.59***	0.64***	1.00
Note	* p < 0.1	** p < 0.01	*** p < 0.001						

Microbial characterization of samples, richness and diversity

The structures of bacterial and fungal communities were generated for the 62 collected samples, consisting of 36 aerosol, 18 surface soil and 8 leaf samples. After paired-end assembly of sequence reads, sample assignment, filtering based on sequence length and quality and discarding of rare sequences, we are left with 2,575,857 and 1,647,000 reads respectively for Fungi and Bacteria, corresponding respectively to 4,762 and 5,852 unique sequences, respectively. After the clustering of high-quality sequences, potential contaminants and chimeras, the final data sets (all samples pooled) consist respectively of 597 and 944 MOTUs for Fungi and Bacteria, with 1,959,549 and 901,539 reads. The average numbers of reads (average \pm SE) per sample are $31,607 \pm 2,072$ and $14,563 \pm 1,221$, respectively. The rarefaction curves of MOTU diversity showed common logarithmic shapes approaching a plateau in all cases (Figure S44). This indicates an overall sufficient sequencing depth to capture the diversity of sequences occurring in the different types of samples. To compare the microbial community diversity and species richness, data normalization was performed out by selecting randomly from each sample 4,287 fungal sequences and 2,865 bacterial sequence reads. The Chao1-values of Fungi are higher for aerosol samples than for soil and leaf samples ($p < 0.05$), indicating higher richness in airborne PM₁₀ (Figure S45A). In contrast, PM₁₀ and soil samples showed higher values of Shannon index ($p < 0.05$), indicating a higher fungal diversity in these ecosystems. The soil harbors higher bacterial richness and diversity than PM₁₀ ($p < 0.05$), which in turns harbors greater richness and diversity compared to leaf samples ($p < 0.05$) (Figure S45B).

Taxonomic composition of airborne PM₁₀

Fungal communities

Statistical assignment of airborne PM₁₀ fungal MOTUs at different taxonomic levels reveals 3 phyla, 17 classes, 58 orders and 160 families (Figure 38). Interestingly, fungal MOTUs are dominated by two common phyla: Ascomycota (accounting for an average of $76 \pm 0.6\%$ (average \pm SD)) of fungal sequences across all air samples, followed by Basidiomycota ($23.9 \pm 0.5\%$). The remaining sequences correspond to Mucoromycota ($< 0.01\%$) and to unclassified sequences (approximately 0.03%). As evidenced in Figure 38, the predominant ($> 1\%$) fungal classes are Dothideomycetes (70.0%), followed by Agaricomycetes (16.0%), Tremellomycetes (5.0%), Sordariomycetes (2.6%), Microbotryomycetes (2.2%), Leotiomycetes (1.8%) and Eurotiomycetes (1.4%). The predominant orders include Pleosporales (35.5 %) and Capnodiales (34.4 %), which belong to Ascomycota. Likewise, the dominant orders in Basidiomycota are Polyporales (7.5%), followed by Russulales (4.2%), Tremellales (2.8%), Hymenochaetales (2.6%) and Sporidiobolales (2.2%). At the genus level, about 327 taxa are characterized across all air samples, among which *Cladosporium* (32.9%), *Alternaria* (15.0%), *Epicoccum* (15.0%), *Peniophora* (2.7%), *Sporobolomyces* (2.2 %), *Phlebia* (2.0%) and *Pyrenophora* (1.9 %) are the most abundant communities.

Bacterial communities

For bacterial communities, the Bact02 marker allowed identifying 17 phyla, 43 classes, 91 orders and 182 families (Figure 38). Predominant phyla include Proteobacteria ($55.3 \pm 0.2\%$), followed by Bacteroidetes ($22.1 \pm 0.1\%$), Actinobacteria ($14.2 \pm 0.1\%$), Firmicutes ($6 \pm 0.2\%$), with less than 1.8 % of the total bacterial sequence reads being unclassified. At the class level, the predominant Bacteria are Alphaproteobacteria (29.4%), Actinobacteria (13.8%), Gammaproteobacteria (12.1%), Betaproteobacteria (11.4%), Cytophagia (8.3%), Flavobacteriia (6.3%), Sphingobacteriia (5.9%), Bacilli (3.5%) and Clostridia (2.2%). As many as 392 genera were detected in all aerosol samples, although many sequences (22.8%) could not be taxonomically assigned at the genus level. The most abundant ($> 2\%$) genera are *Sphingomonas* (20%), followed by *Massilia* (8.4%), *Hymenobacter* (5.5%), *Pseudomonas* (5.1%), *Pedobacter* (3.3%), *Flavobacterium* (2.8%), *Chryseobacterium* (2.8%), *Frigoribacterium* (2.5%), and *Methylobacterium* (1.9%).

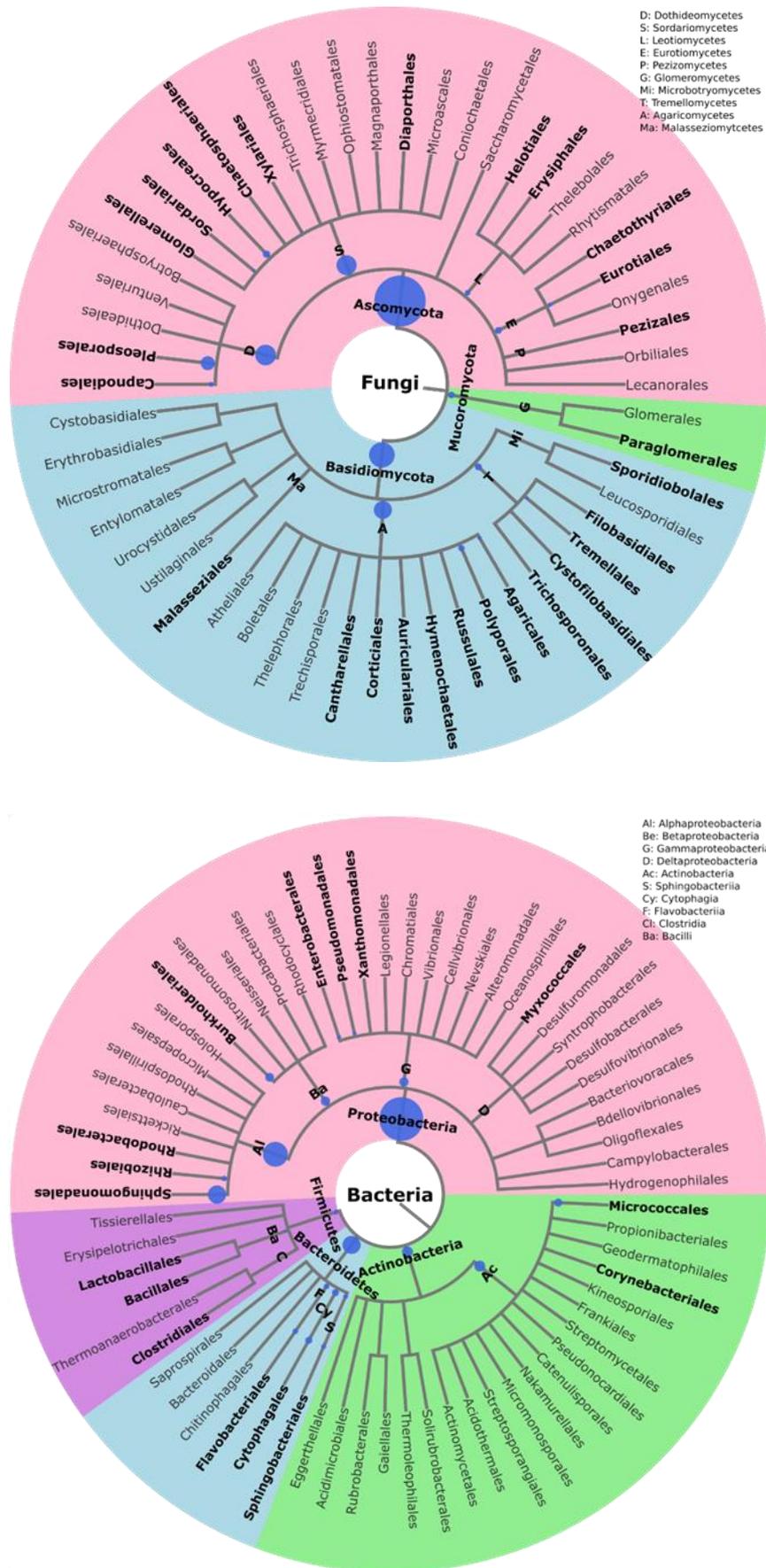


Figure 38: Taxonomic and phylogenetic trees of fungal and bacterial community structure in PM₁₀ at the study site. Phylogenetic trees are analyzed with the Environment for Tree Exploration (ETE3) package implemented in Python (Huerta-Cepas et al., 2016). The

circle from inner to outer layer represents classification from kingdom to order successively. Further details on fungal and bacterial taxa at genus level are provided in Figure S47. The node size represents the average relative abundance of taxa. Only nodes with relative abundance ≥ 1 are highlighted in bold.

Relationship between airborne microbial community abundances and PM₁₀ SC species

The NMDS (non-metric multidimensional scaling) ordination exploring the temporal dynamics of microbial community beta diversity among all PM₁₀ aerosol samples revealed significant temporal shifts of community structure for both Fungi and Bacteria (Figure 39).

An NMDS (two dimensions, stress = 0.16) based on fungal class-level compositions (Figure 39A) results in three distinct clusters of PM₁₀ samples. With one exception (A23), all air samples with higher SC concentration levels (A5 to A20, see Table S9 and Figure S47) are clustered together and are distinct from those with background levels of atmospheric SC concentrations. This pattern is further confirmed with the analysis of similarity, which shows a significant separation of clusters of samples (ANOSIM; $R = 0.31$, $p < 0.01$). As evidenced in Figure 39A, this difference is mainly explained by the NMDS1 axis, which results from the predominance of only a few class-level Fungi in PM₁₀ samples, including Dothideomycetes, Tremellomycetes, Microbotryomycetes and Exobasidiomycetes. Vector fitting of chemical time series data to the NMDS ordination plot indicates that the latter four fungal community assemblage best correlates with individual SC species. Mannitol ($R^2 = 0.37$, $p < 0.01$), arabitol ($R^2 = 0.36$, $p < 0.01$), trehalose ($R^2 = 0.41$, $p < 0.01$), glucose ($R^2 = 0.33$, $p < 0.01$), xylitol ($R^2 = 0.45$, $p < 0.01$), erythritol ($R^2 = 0.40$, $p < 0.01$) and inositol ($R^2 = 0.24$, $p = 0.01$) are significantly positively correlated to the fungal assemblage ordination solution.

For bacterial phylum-level compositions (Figure 39B), an NMDS ordination (two dimensions, stress = 0.07) analysis differentiates the PM₁₀ samples into two distinct clusters according to their SC concentrations levels. All air samples with higher SC concentration levels except two (A23 and A24) are clustered separately from those with ambient background concentration levels. ANOSIM analysis ($R = 0.69$, $p < 0.01$) further confirms the significant difference between the two clusters of samples. Proteobacteria constitutes the most dominant bacterial phylum during the SC peak over the sampling period. Interestingly, changes in individual SC profiles are significantly correlated with bacterial community temporal shifts (Figure 39B). Mannitol ($R^2 = 0.25$, $p < 0.01$), arabitol ($R^2 = 0.24$, $p < 0.01$), trehalose ($R^2 = 0.32$, $p < 0.01$), glucose ($R^2 = 0.32$, $p < 0.01$), xylitol ($R^2 = 0.38$, $p < 0.01$) and erythritol ($R^2 = 0.27$, $p < 0.01$) are mainly positively correlated to the bacterial community dissimilarity.

Given the distinct clustering patterns of airborne PM₁₀ microbial beta diversity structures according to SC concentration levels, a Pearson's rank correlation analysis has been performed to further examine the relationships between individual SC profiles and airborne microbial community abundance at phylum or class levels. This analysis reveals that for class-level Fungi the abundances of Dothideomycetes, Tremellomycetes and Microbotryomycetes are highly positively correlated ($p < 0.05$) to the temporal evolutions of the individual SC species concentration levels (Figure S48A). Likewise, ambient SC species concentration levels are significantly correlated ($p < 0.05$) to the Proteobacteria phylum (Figure S48B). To gain further insight into the airborne microbial fingerprints associated with ambient SC species, correlation analyses were also performed at a finer taxonomic level. These analyses show that the temporal dynamics of SC species primarily correlates best ($p < 0.05$) with the *Cladosporium*, *Alternaria*, *Sporobolomyces* and *Dioszegia* fungal genera (Figure 40A). Similarly, the time series of SC species are primarily positively correlated ($p < 0.05$) with *Massilia*, *Pseudomonas*, *Frigoribacterium*, and to a lesser degree (non-significant) with the *Sphingomonas* bacterial genus (Figure 40B).

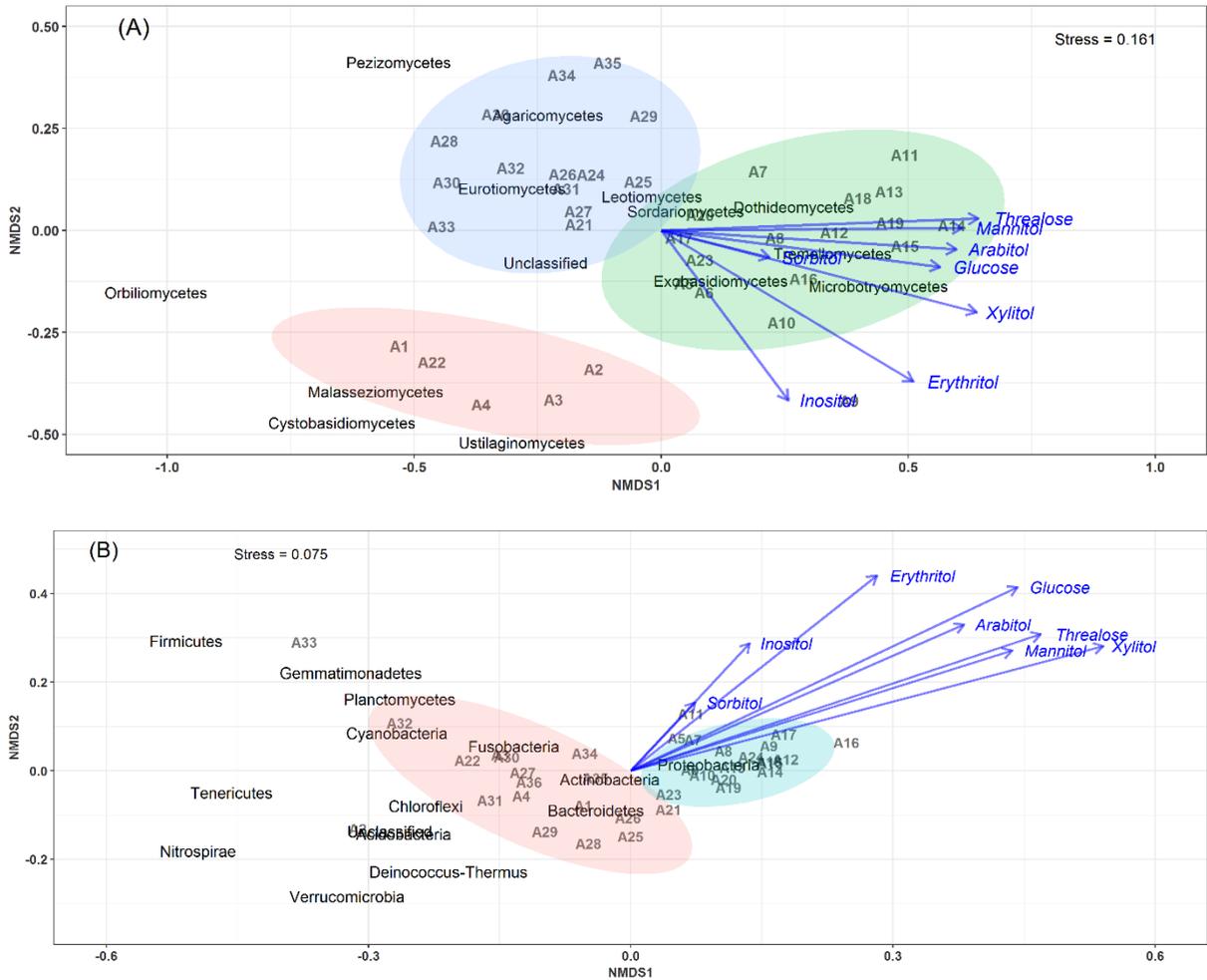
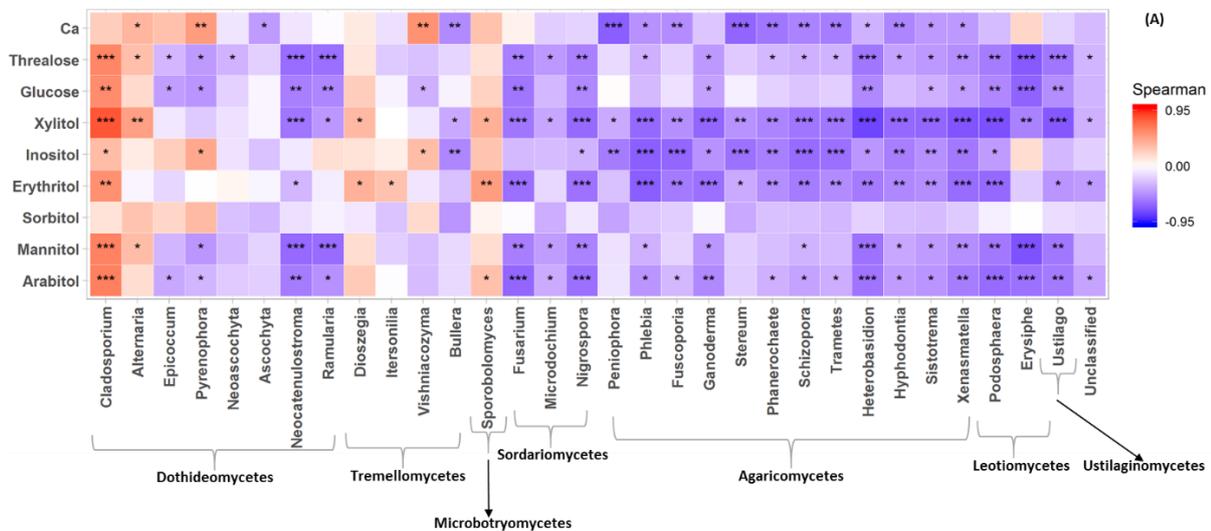


Figure 39: **Main airborne microbial communities associated with atmospheric concentrations of SC species.** NMDS ordination plots are used to show relationship among time series of aerosol samples. The stress values indicate an adequate 2-dimensional picture of sample distribution. Ellipses represent 95% confidence intervals for the cluster centroid. NMDS analyses are performed directly on taxonomically assigned quality-filtered sequences tables at class and phylum level respectively for Fungi (A) and Bacteria (B). Ambient primary sugar concentration levels in PM_{10} appear to be highly influenced by the airborne microbial community structure and abundance. Similar results are obtained with taxonomically assigned MOTU tables, highlighting the robustness of our methodology.



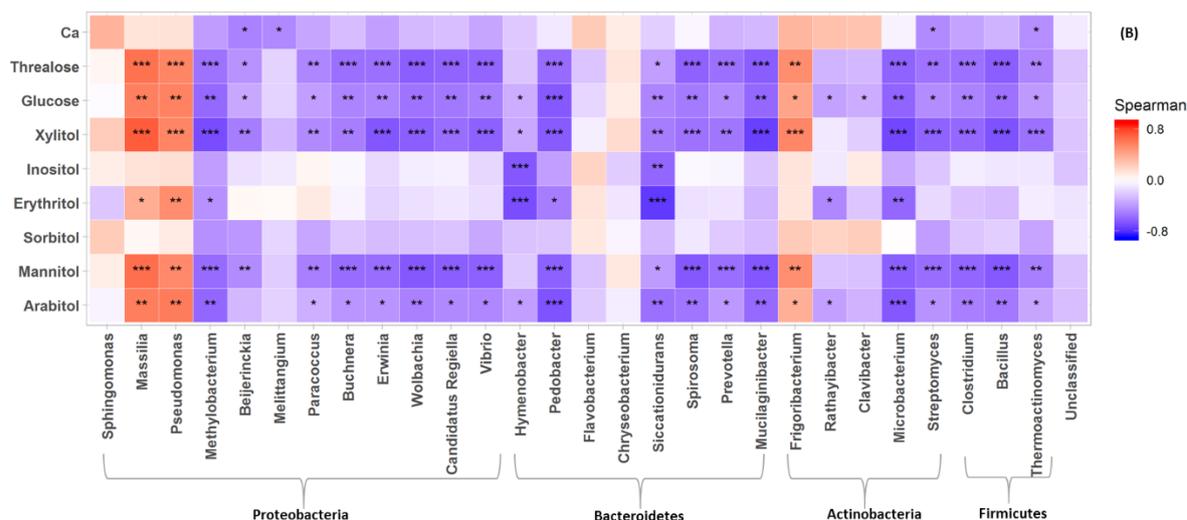


Figure 40: Heatmap of Spearman's rank correlation between SCs and abundance of airborne communities at the study site. (A) Fungal and (B) bacterial genus, respectively. Only genera with relative abundance ≥ 1 are shown.

Sources of airborne microbial communities at the study site

As shown in Figure 41, the airborne microbial genera most positively correlated with SC species are also distributed in the surrounding environmental samples of surface soils and leaves. In addition, microbial taxa of PM₁₀ associated with SC species are generally more abundant in the leaves than in the topsoil samples (Figure 41). In order to further explore and visualize the similarity of species compositions across local environment types, we conducted an NMDS ordination analysis (Figure 42). The effect of the local environment types on the overall community composition is evident (ANOSIM, $R = 0.79$ and 0.89 , $p < 0.01$ for fungal and bacterial communities, respectively), wherein the beta diversities of fungal and bacterial MOTUs are more similar within the same habitat (PM₁₀, plant or soil) and are grouped across habitats as expected (Figure 42). Interestingly, the beta diversities of fungal and bacterial MOTUs in leaf samples and those in airborne PM₁₀ are generally not readily distinguishable, with similarity becoming more prominent during atmospheric peaks of SC concentration levels (Figure 42). The overall beta diversities in airborne PM₁₀ and in leaf samples are significantly different from those from topsoil samples (ANOSIM, $R = 0.89$ and 0.80 , $p < 0.01$ for fungal and bacterial communities, respectively), without any overlap regardless of whether or not harvesting activities are performed around the study site. This observation is also confirmed by an unsupervised hierarchical cluster analysis, which reveals a pattern similar to that observed in the NMDS ordination, where taxa from leaf samples and airborne PM₁₀ are clustered together, regardless of whether ambient concentration levels of SC peaked or not, and they are clustered separately from those of topsoil samples (Figure S49).

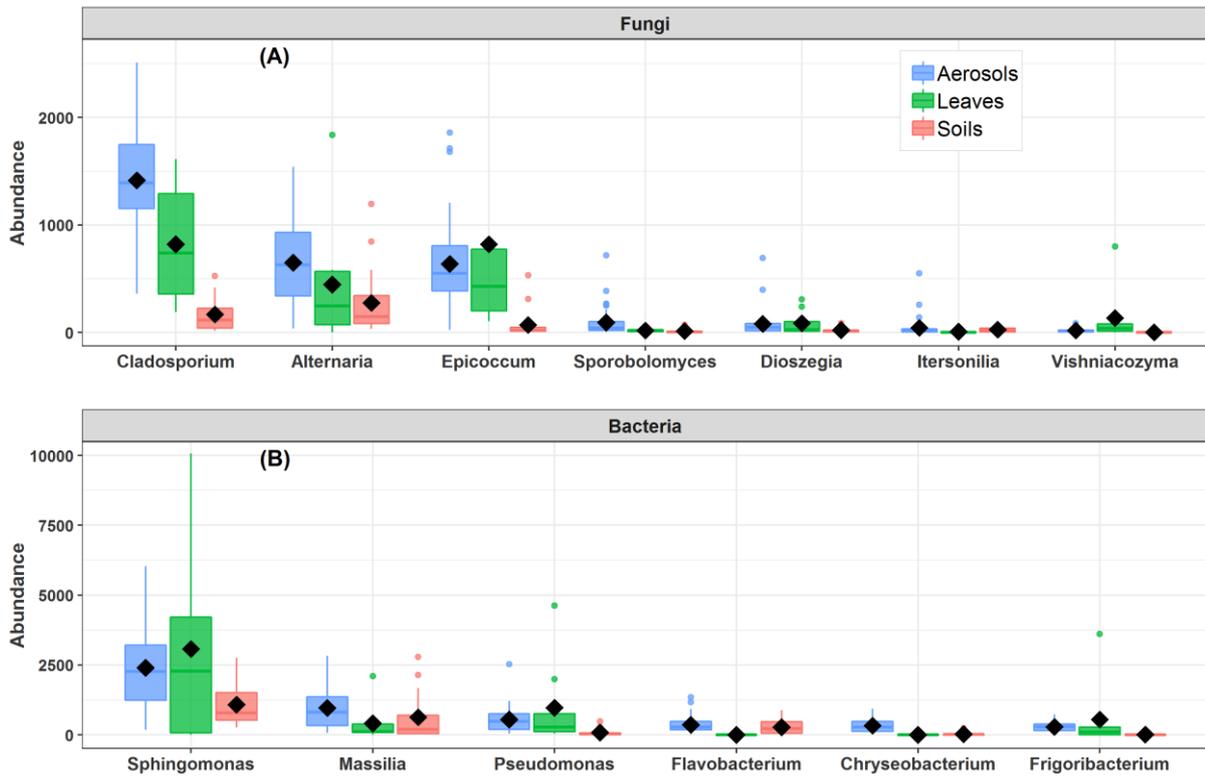


Figure 41: Abundance of SC species-associated microbial taxa. (A) Fungal and (B) bacterial genera in the airborne PM₁₀ samples and surrounding environmental samples. Data were rarefied at the same minimum sequencing depth.

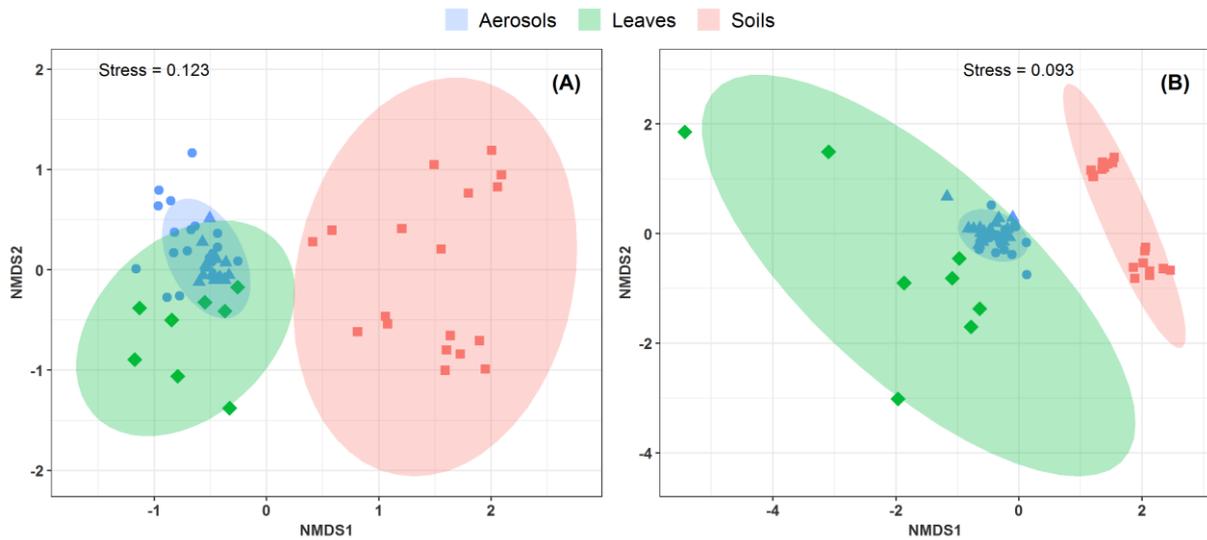


Figure 42: Compositional comparison of sample types in a NMDS scaling ordination. NDMS plots are constructed from a Horn distance matrix of MOTUs abundances for Fungi (A) and Bacteria (B), respectively. Data sets are rarefied at the same sequencing depth. The stress values indicate an adequate two-dimensional picture of sample distribution. Ellipses represent 95% confidence intervals for the cluster centroids. Circular and triangular shapes highlight air PM₁₀ samples respectively with background and peak SC concentrations.

Discussion

Airborne PM has been investigated extensively in the context of the chemical and physical properties of aerosols, and several epidemiological studies have demonstrated significant associations between airborne particles and human morbidity and mortality (Kelly and Fussell, 2015; Pope and Dockery, 2006). To date, much less is understood about the interactions between air microbiome and PM chemical profiles (Elbert et al., 2007). In this

study, we used a comprehensive multidisciplinary approach to produce for the first time airborne microbial fingerprints associated with SC species in PM₁₀ and to identify the dominant sources of SCs in a rural area extensively cultivated.

SCs as a major source of organic matter in PM₁₀

SC species have previously been reported to be ubiquitous in PM₁₀ collected in several areas in France (Samaké et al., 2019b). In this study, the total SC presented an average concentration of $259.8 \pm 253.8 \text{ ng.m}^{-3}$, with a range of 26.6 to 1,679.5 ng.m^{-3} in all air samples. These concentration values are on average five times higher than those typically observed in urban areas in France (average values during summer $48.5 \pm 43.6 \text{ ng.m}^{-3}$) (Samaké et al., 2019b), but are within the range of those previously reported for SC PM_{2.5} at various rural sites located in large crop fields (Yan et al., 2019). Comparable concentrations for SC in PM₁₀ have also been reported at urban sites in Beijing (Liang et al., 2016).

The total concentrations of SC quantified in the atmospheric PM₁₀ over our study site accounted for 0.8 to 13.5% of the daily OM mass. This is remarkable considering that a maximum of only 20% of particulate OM mass can generally be speciated and quantified at the molecular level (Fortenberry et al., 2018). Hence, our results for a nine week-long period indicate that SC could be major molecular component of OM at agricultural areas during summer, in line with several previous studies conducted worldwide (Jia et al., 2010; Verma et al., 2018; Yan et al., 2019).

Composition of airborne fungal and bacterial communities

In this study, 597 (39-132 MOTUs per sample) and 944 (31-129 MOTUs per sample) MOTUs were obtained for the Fungi and Bacteria libraries, respectively, reflecting the high richness of airborne microbial communities associated with ambient PM₁₀ in a rural agricultural zone in France. Airborne Fungi were dominated by Ascomycota followed by Basidiomycota phyla, consistent with the natural feature of many Ascomycota, whose unicellular or filamentous growth forms are small enough to be easily aerosolized, unlike many Basidiomycota that are too large to be easily aerosolized (Moore et al., 2011; Womack et al., 2015). Many members of AMC and BMC are well known to actively eject ascospores and basidiospores as well as aqueous jets and droplets containing a mixture of carbohydrates and inorganic solutes into the atmosphere (Elbert et al., 2007; Womack et al., 2015). The prevalence of Ascomycota and Basidiomycota is consistent with previous studies also indicating that the *Dikarya* subkingdom (Ascomycota and Basidiomycota) represents about 98% of known species in the biological Kingdom of *Eumycota* (i.e., Fungi) in atmosphere (Elbert et al., 2007; James et al., 2006; Womack et al., 2015).

Airborne Bacteria in this study belonged mainly to the Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria and Firmicutes phyla, consistent with previous studies (Liu et al., 2019; Maron et al., 2005; Wei et al., 2019b). Gram-negative Proteobacteria constitute a major taxonomic group among prokaryotes (Itävaara et al., 2016; Yadav et al., 2018), which includes bacterial taxa very diverse and important in agriculture, capable of fixing nitrogen in symbiosis with plants (Itävaara et al., 2016; Yadav et al., 2018). Proteobacteria can survive under conditions with very low nutrient content, which explains their atmospheric versatility (Itävaara et al., 2016; Yadav et al., 2018). These results are similar to those observed in previous studies conducted in different environments around the world, where Proteobacteria, Actinobacteria and Firmicutes have also been reported as dominant bacterial phyla (Liu et al., 2019; Maron et al., 2005; Wei et al., 2019a). In particular, the most frequent gram-negative (Proteobacteria and Bacteroidetes) and gram-positive (Actinobacteria and Firmicutes) Bacteria, and filamentous Fungi (Ascomycota and Basidiomycota) have been previously linked to raw straw handling activities in the northern plains of China (Wei et al., 2019b).

Atmospheric concentration levels of SC species in PM₁₀ are associated with the abundance of few specific airborne taxa of Fungi and Bacteria

Primary sugar compounds are widely produced in large quantities by many microorganisms to cope with environmental stress conditions (Medeiros et al., 2006). SC species are known to accumulate at high concentrations in microorganisms at low water availability to reduce intracellular water activity and prevent enzyme inhibition due to dehydration (Hryniewicz et al., 2010). In addition, temporal dynamics of ambient

polyols concentrations have been suggested as an indicator to follow the general seasonal trend in airborne fungal spore counts (Bauer et al., 2008; Gosselin et al., 2016). Although this strategy has allowed introducing conversion ratios between specific polyols species (i.e., arabitol and mannitol) and airborne fungal spores in general (Bauer et al., 2008), the structure of the airborne microbial community associated with SC species has not yet been studied. Our results provide culture-independent evidence that the airborne microbiome structure and the combined bacterial and fungal communities largely determine the SC species concentration levels in PM₁₀.

Temporal fluctuations in the abundance of only few specific fungal and bacterial genera reflect the temporal dynamics of ambient SC concentrations. For Fungi, genera that show a significant positive correlation ($p < 0.05$) with SC species includes *Cladosporium*, *Alternaria*, *Sporobolomyces* and *Dioszegia*. *Cladosporium* and *Alternaria* are fungal genera that contribute on average to 47.9% of total fungal sequence reads in air samples from the study site. These are asexual fungal genera that produce spores by dry-discharge mechanisms, in which spores are dislodged and easily entrained by air currents or other external forces, as opposed to liquid jets or droplets in air (Elbert et al., 2007; Wei et al., 2019b; Womack et al., 2015). Our results are consistent with the well-known seasonal behavior of airborne fungal spores, with levels of *Cladosporium* and *Alternaria* which have been shown to reach their maximum from early to midsummer in a rural agricultural area of Portugal (Oliveira et al., 2009). Similarly, bacterial genera positively correlated with SC species are *Massilia*, *Pseudomonas*, *Frigoribacterium*, and *Sphingomonas*. Although it is the prevalent bacterial genus at the study site, *Sphingomonas* is indeed not significantly positively correlated with SC species. The genus *Sphingomonas* is well-known to include numerous metabolically versatile species capable of using carbon compounds usually present in the atmosphere (Cáliz et al., 2018). The atmospheric abundance of species affiliated with *Massilia* has already been linked to the stage of plant development (Ofek et al., 2012), which can be attributed to the capacity of *Massilia* to promote plant growth, through the production of indole acetic acid (Kuffner et al., 2010), or siderophores (Hryniewicz et al., 2010) and to be antagonist towards *Phytophthora infestans* (Weinert et al., 2010).

As far as we know, this is the first study evaluating microbial fingerprints with SC species in atmospheric PM, hence it is not possible to compare our correlation results with that of previous works. However, it has already been suggested that types and quantities of SC species produced by Fungi under culture conditions are specific to microbial species and external conditions such as carbon source, drought and heat, etc. (Hryniewicz et al., 2010).

Local vegetation as major source of airborne microbial taxa of PM₁₀ associated with SC species

There are still many challenging questions on the emission processes leading to Fungi and Bacteria being introduced into the atmosphere, together with their chemical components. In particular, the potential influence of soil and vegetation and their respective roles in structuring airborne microbial communities is still debated (Lymperopoulou et al., 2016; Womack et al., 2015), especially since this knowledge is particularly essential for the precise modeling of PBOA emissions and dynamics.

Characterization of the temporal dynamics of SC species concentrations could provide important information on PBOA sources in terms of composition, environmental drivers and impacts. The results obtained over a nine week-period of daily PM₁₀ SC measurements clearly show that the temporal dynamics of sorbitol ($R = 0.59$, $p < 0.001$) and inositol ($R = 0.64$, $p < 0.001$) are well correlated linearly with that of calcium, a typical inorganic water-soluble ion from crustal material. This indicates a common atmospheric origin for these chemicals. Sorbitol and inositol are well-known reduced sugars that serve as carbon source for microorganisms when other carbon sources are limited (Ng et al., 2018; Xue et al., 2010). In microorganisms, sorbitol and inositol are mainly produced by the reduction of intracellular glucose by aldose reductase in the cytoplasm (Ng et al., 2018; Welsh, 2000; Xue et al., 2010). Moreover, significant concentrations of both sorbitol and inositol have already been measured in surface soil samples from five cultivated fields in the San Joaquin Valley, USA (Jia et al., 2010; Medeiros et al., 2006). Therefore, sorbitol and inositol are most likely associated with microorganisms from soil resuspension.

With the exception of sorbitol and inositol, all other SC species measured in air samples at the study site are highly correlated with each other, indicating a common origin. Daily calcium concentration peaks are not systematically associated with those of other SC species. Interestingly, the highest atmospheric levels of these SC species occurred on August 8th 2017, coinciding well with daily harvesting activities around the study site. This is also consistent with a multi-year monitoring of the dominant SCs in PM₁₀ at this site, where ambient SCs showed a clear seasonal trend with higher values recorded in early August and in good agreement with harvesting activities around the study area every year from 2012 to 2017 (Samaké et al., 2019a). This suggests that the processes responsible for the dynamics of atmospheric concentrations of SCs are replicated annually and most likely effective over large areas of field crop. Interestingly, glucose—the most common monosaccharide present in vascular plants and microorganisms—has already been proposed as molecular indicator of biota emitted into the atmosphere by vascular plants and/or by the resuspension of soil from agricultural land (Jia et al., 2010; Pietrogrande et al., 2014). Therefore, all other SC species measured at the study site can be considered to be most likely the result of the mechanical resuspension of crop residues (e.g., leaf debris) and microorganisms attached to them. Other confirmations of this interpretation stem from the excellent daily co-variations observed between SC species levels and ambient cellulose, widely considered as a reliable indicator of the plant sources studied (Bozzetti et al., 2016).

Microbial abundance and community structure in samples from the site surrounding environment can provide further useful information on sources apportionment and importance. Our data indicate that the airborne microbial genera most positively correlated to SC species are also distributed in surrounding environmental samples from both surface soils and leaves, suggesting a greater influence of the local environments for microbial taxa associated with SC species, as opposed to long-range transport. This observation makes sense since actively discharged ascospores and basidiospores are generally relatively large airborne particles with short atmospheric residence time (Elbert et al., 2007; Womack et al., 2015), limiting the possibilities of long-range dissemination. Accordingly, the majority of previous studies investigating the potential sources of air microbes found the local surface environments (e.g., leaves, soils, waterbodies, etc.) to have more important effects on airborne microbiome structure in field crop areas (Bowers et al., 2011; Wei et al., 2019b; Womack et al., 2015).

In the present study, microbial diversity and richness observed in the surface soils are generally higher than those in leaf surfaces. Microbial taxa most positively correlated with PM₁₀ SC species are generally more abundant in leaf than in topsoil samples. These results were unexpected and show the possible importance of leaf surfaces in structuring the airborne taxa associated with SC species. Considering the general grouping of leaf samples and airborne PM₁₀ regardless of harvesting activities around the study site in addition to the separate assemblies of rarefied MOTUs in airborne PM₁₀ and topsoil samples, it can be argued that aerial parts of plants are the major source of microbial taxa associated with SC species. By reviewing previous studies, *Alternaria* and *Epicocum*, which made 30% of total fungal sequence reads in all air samples in this study, have been shown to be common saprobes or weak pathogens of leaf surfaces (Andersen et al., 2009). Similarly, *Cladosporium*, which accounted for 32.9% of total fungal genera in all air samples, have also been shown to be a common saprotrophic fungi inhabiting in decayed tree or plant debris (Wei et al., 2019b). The high relative abundance of *Sphingomonas* and *Massilia*, accounting for 28.4% of total bacterial genera in all air samples, is also noticeable. These two phyllosphere inhabiting bacterial genera are well-known for their plant protective potential against phytopathogens (Aydogan et al., 2018; Rastogi et al., 2013).

Altogether, these observations support our interpretation that leaves are the major direct source of airborne Fungi and Bacteria during the summer months. Endophytes and epiphytes can be dispersed in the air and transported vertically as particles by the air currents, much faster and more widely than by other mechanisms, such as direct dissemination from surface soil, which is generally controlled by soil moisture (Jocteur Monrozier et al., 1993). The most wind-dispersible soil constituents are indeed the smallest soil particles (i.e. clay-size fraction), which contain the largest number of microorganisms (Jocteur Monrozier et al., 1993) and can only be released into the atmosphere under conditions of prolonged drought. This interpretation is also consistent with previous studies (Bowers et al., 2011; Liu et al., 2019; Lympelopoulou et al., 2016), which also show the extent to which endophytes and epiphytes can serve as quantitatively important sources of airborne microbes during summertime

when vegetation density is highest. For example, Lympelopoulou et al. (Lympelopoulou et al., 2016) observed that Bacteria and Fungi suspended in the air are generally two to more than ten times more abundant in air that passed over 50m of vegetated surface than that is immediately upwind of the same vegetated surface. However, the relatively abundance of taxa associated with SCs in surface soils could also be indicative of a feedback loop in which the soil may serve as sources of microbial endophytes and epiphytes for plants while the local vegetation in turns may serve as sources and sinks of microbes for local soils during leaf senescence.

Limits and perspectives of our study

This is the first intensive study surveying simultaneously ambient SC species and microbial communities in both PM₁₀ and surrounding environments. However, our sampling period limited to the hot season does not allow to fully monitor the temporal dynamics of leaf surface microbes. This might provide important information on the identity of the plants that host the airborne microbial communities identified as associated with SC species in PM₁₀. Such information could be used for planning efforts to reduce PBOA source strengths and the spreading of airborne microbial and derivative allergens such as endotoxins, mycotoxins, glucans, etc. Moreover, it also remains to investigate how-well different climate patterns and sampling site specificities, in terms of land use and vegetation cover, could affect our main conclusions. Thus, future multiple geographical location studies should be performed, which would be of particular importance to address the primary biogenic aerosol-related health issues and to efficiently constraint PBOA in source-resolved chemical transport models for a better predictive capability of air quality at several spatial scale. Additionally, a complementary way to further validate our main results would be to directly characterize the SC contents of some species of the dominant microbial taxa identified in this study after growth under several laboratory chambers reproducing controlled environmental conditions in terms of temperature, water vapor or carbon sources.

Material and methods

Site description

The Observatoire Pérenne de l'Environnement (OPE) is a rural background observatory located at about 230 km east of Paris at an altitude of 392 m (Figure 43). This French Critical Zone Observatory (CZO) is part of a long term multi-disciplinary project monitoring the state of environmental variables including among other fluxes, abiotic and biotic variables, and their functions and dynamics (<http://ope.andra.fr/index.php?lang=en>, last access: 5 April 2019). It is largely impacted by agricultural activities. It is also characterized by a low population density (less than 22 inhab.km⁻² within an area of 900 km²), with no industrial activities nor surrounding major transport road. The air monitoring site itself lies in a “*reference sector*” of 240 km², in the middle of a field crop area (tens of kilometers in all directions). This reference sector is composed of vast farmland interspersed with wooded areas. The area is also characterized by a homogeneous type of soil, with a predominance of superficial clay-limestone. The daily agricultural practices and meteorological data (including wind speed and direction, temperature, rainfall level and relative humidity) within the reference sector are recorded and made available by ANDRA (Agence nationale pour la gestion des déchets radioactifs). The agricultural fields of the area are generally submitted to a 3-year crop-rotation system. The major crops during the campaign period were pea and oilseed rape.

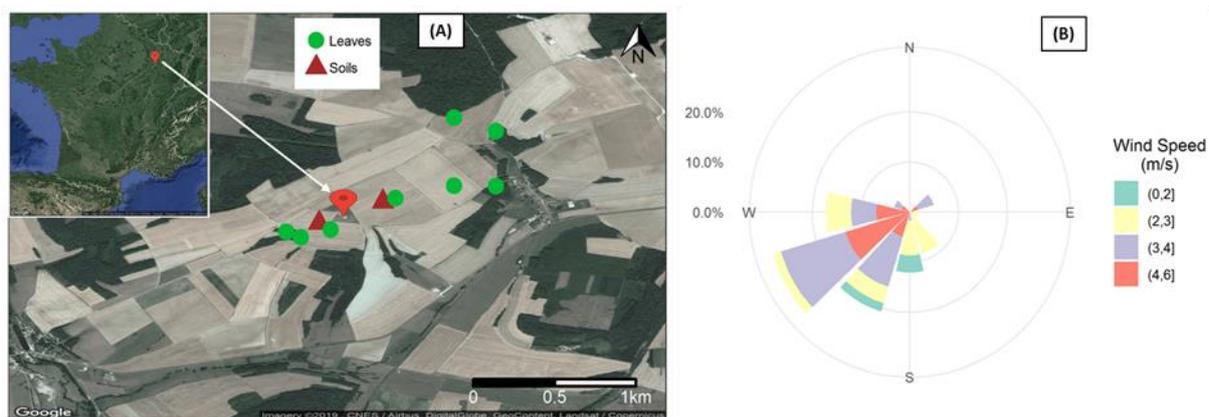


Figure 43 : Overview of the sampling area at the OPE site (France). (A) Location of sampling units and (B) wind conditions (speed and direction) during the field sampling campaign period.

Samples collection

An intensive field campaign was conducted at the study site for the sake of the present study. The aerosol sampling campaign period lasted from June 12th to August 21st, 2017, covering the summer period in France. During this period, ambient PM₁₀ were collected daily (starting at 9 am UTC to 9 am UTC the next day) onto prebaked quartz fiber filters (Tissuquartz PALL QAT-UP 2500, Ø = 150 mm) using high volume samplers (Aerosol Sampler DHA-80, Digitel; 24 h at 30 m³.h⁻¹). All details on the preparation, storage, and handling of these filter samples can be found in Samaké et al. (Samaké et al., 2019b). A total of 69 samples and six field blanks were collected.

Surface soil samples (0-5 cm depth, 15x15 cm area) were simultaneously collected from two fields, within pea and oilseed rape-growing areas, respectively. The fields are located in the immediate vicinity of the PM₁₀ sampler and under the prevailing wind directions (Figure 43). To represent as closely as possible the local soil microbial communities, we randomly collected five subsamples (about 100g per sampling unit) within each parcel and pooled them. Topsoil sampling took place on a weekly basis along the campaign period. After collection and homogenization, 15g of each subsample were stored in airtight containers (sterile bottles, Schott, GL45, 100ml) containing the same weight of sterile silica gel (around 15g). Such soil desiccation method is a straightforward approach to prevent any microbial growth and change in community over time at room temperature (Taberlet et al., 2018). A total of eight topsoil samples were collected for each parcel.

Finally, leaf samples were collected from the major types of vegetables within the reference sector. These include leaf of oilseed rape, pea, oak, maples, beech, and herbs (Figure 43). A total of eight leaf samples were analyzed. These samples were also stored in airtight containers (sterile bottles, Schott, GL45, 100ml) containing 15g of silica gel. It should be noted that leaf samples were collected only once, four weeks after the end of PM and soil sampling, while the major crops at OPE were still on site.

Chemical analyses

Daily PM₁₀ samples were analyzed for various chemical species using subsampled fractions of the collection filters and a large array of analytical methods. Detailed information on all the chemical analysis procedures have been reported previously (Golly et al., 2018; Samaké et al., 2019b; Waked et al., 2014). Briefly, SCs (i.e. polyols and saccharides) and water-soluble ions (including Ca²⁺) have been systematically analyzed in all samples, using respectively high-performance liquid chromatography with pulsed amperometric detection (HPLC-PAD) and ionic chromatography (IC, Thermo Fisher ICS 3000). Free-cellulose concentrations were determined using an optimized enzymatic hydrolysis (Samaké et al., 2019a) and the subsequent analysis method of the resultant glucose units with an HPLC-PAD (Golly et al., 2018; Samaké et al., 2019b; Waked et al., 2014). Organic and elemental carbon (OC, EC) have been analyzed using a Sunset thermo-optic instrument and the EUSAAR2 protocol (Cavalli et al., 2010). This analytical method requires high temperature, thereby constraining the choice

of quartz as sampling filter material. OM content in PM₁₀ samples were then estimated using a OM-to-OC conversion factor of 1.8: OM = 1.8 × OC (Samaké et al., 2019b, 2019a).

Biological analyses: DNA extraction in PM₁₀ samples

Aerosol samples typically contain very low DNA concentrations, and the DNA-binding properties of quartz fibers of aerosol collection filters make challenging its extraction with traditional protocols (Dommergue et al., 2019; Jiang et al., 2015; Luhung et al., 2015). In the present study, we were also constrained by the limited available daily collection filter surface for simultaneous chemical and microbiological analyses of the same filters. To circumvent issues of low efficiency during genomic DNA extraction, several technical improvements have been made to optimize the extraction of high-quality DNA from PM₁₀ samples (Dommergue et al., 2019; Jiang et al., 2015; Luhung et al., 2015). These include thermal water bath sonication helping lysis of thick cell walls (e.g., fungal spores and gram-positive Bacteria), which might not be effectively lysed by means of sole bead beating (Luhung et al., 2015). Some consecutive (2 days at maximum) quartz filter samples with low OM concentrations were also pooled when necessary. Detailed information regarding the resultant composite samples (labeled as A1 to A36) are presented in Table S9. Figure S47 presents the average concentration levels of SC species in each sample. The results clearly show that air samples can be categorized from low (background, from A1 to A4 and A21 to A36) to high (peak, from A5 to A20) PM₁₀ SC concentration levels.

In terms of DNA extraction, ¼ (about 38.5 cm²) of each filter sample were used. First, filter aliquots were aseptically inserted into individual 50 mL Falcon tubes filled with sterilized saturated phosphate buffer (Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, 0.12 M; pH ≈ 8). PM₁₀ were desorbed from the filter samples by gentle shaking for 10 min at 250 rpm. This pretreatment allows the separation of the collected particles from quartz filters thanks to the high competing interaction between saturated phosphate buffer and charged biological materials (Jiang et al., 2015; Taberlet et al., 2018). After gentle vortex mixing, the subsequent resuspension was filtered with a polyethersulphone membrane disc filter (PES, Supor® 47mm 200, 0.2 µm, PALL). We repeated this desorbing step three times to enhance the recovery of biological material from quartz filters. Each collection PES membrane was then shred into small pieces and used for DNA extractions using the Dneasy PowerWater kit (Qiagen, Germantown, MD). The standard protocol of the supplier was followed, with only minor modifications: 30 min of thermal water bath sonication at 65°C (EMAG, Emmi-60 HC, Germany; 50% of efficiency), and 5 min of bead beating before and after sonication were added. Finally, DNA was eluted in 50 µl of EB buffer. Such an optimized protocol has been recently shown to produce a 10-fold increase in DNA extraction efficiency (Dommergue et al., 2019; Luhung et al., 2015), thereby allowing high-throughput sequencing of air samples. Note that all the steps mentioned above were performed under laminar flow hoods, and that materials (filter funnels, forceps, and scissors) were sterilized prior to use.

Biological analyses: DNA extraction from soil and leaf samples

The soil samples pretreatment and extracellular DNA extraction were achieved following an optimized protocol proposed elsewhere (Taberlet et al., 2018). Briefly, this protocol involves mixing thoroughly and extracting 15g of soil in 15 ml of sterile saturated phosphate buffer for 15 min. About 2 mL of the resulting extracts were centrifuged for 10 min at 10,000g, and 500 µL of the resulting supernatant were used for DNA extraction using the NucleoSpin Soil Kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany) following the manufacturer's original protocol after skipping the cells lysis step. Finally, DNA was eluted with 100 µL of SE buffer.

To extract DNA from either endophytic or epiphytic microorganisms, aliquots of leaf samples (about 25—30mg) were extracted with the Dneasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Germany) according to the supplier's instructions, with the following minor modifications: after the resuspension of powdered samples in 400 µL of AP1 buffer, the samples were incubated for 45 min at 65°C with Rnase A. Finally, DNA was eluted with 100 µL of AE buffer.

Biological analyses: PCR amplification and sequencing

Bacterial and fungal community compositions were surveyed using respectively the Bact02 (Forward 5'—KGCCAGCMGCCGCGGTAA—3' and Reverse 3'—GGACTACCMGGGTATCTAA—5') and Fung02 (Forward 5'—GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG—3' and Reverse 3'—

CAAGAGATCCGTTGYTGAAAGTK—5') published primer pairs [see (Taberlet et al., 2018) for details on these primers]. The primer pair Bact02 targets the V4 region of the bacterial 16S rDNA region while the Fung02 primer pair targets the nuclear ribosomal internal transcribed spacer region 1 (ITS1). Four independent PCR replicates were carried out for each DNA extract. Eight-nucleotide tags were added to both primer ends to uniquely identify each sample, ensuring that each PCR replicate is labeled by a unique combination of forward and reverse tags. The tag sequence were created with the *oligotag* command within the open-source OBITools software suite (Boyer et al., 2016), so that all pairwise tag combinations were differentiated by at least five different base pairs (Taberlet et al., 2018).

DNA amplification was performed in a 20- μ L total volume containing 10 μ L of AmpliTaq Gold 360 Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), 0.16 μ L of 20 mg.ml⁻¹ bovine serum albumin (BSA; Roche Diagnostics, Basel, Switzerland), 0.2 μ M of each primer, and 2 μ L of diluted DNA extract. DNA extracts from soil and filters were diluted eight times while DNA extracts from leaves were diluted four times. Amplifications were performed using the following thermocycling program: an initial activation of DNA polymerase for 10 min at 95°C; x cycles of 30 s denaturation at 95°C, 30 s annealing at 53°C and 56°C for Bacteria and Fungi, respectively, 90 s elongation at 72°C; and a final extension at 72°C for 7 min. The number of cycles x was determined by qPCR and set at 40 for all markers and DNA extract types, except for the Bact02 amplification of soil and leaf samples (30 cycles), and the Fung02 amplification of filter samples (42 cycles). After amplification, about 10% of amplification products were randomly selected and verified using a QIAxcel Advance device (QIAGEN, Hilden, Germany) equipped with a high-resolution cartridge for separation.

After amplification, PCR products from the same marker were pooled in equal volumes and cleaned with the MinElute PCR purification kit (Qiagen, Hilden, Germany) following the manufacturer's instructions. The two pools were sent to Fasteris SA (Geneva, Switzerland; <https://www.fasteris.com/dna/>; last access April 5, 2019) for library preparation and MiSeq Illumina 2 \times 250 bp paired-end sequencing. The two sequencing libraries (one per marker) were prepared according to the PCR-free MetaFast protocol (www.fasteris.com/metafast, last access April 5, 2019), which aims at limiting the formation of chimeras.

To monitor any potential false positives inherent to tag jumps and contaminations (Schnell et al., 2015), sequencing experiment included both extraction and PCR negatives, as well as unused tag combinations.

Bioinformatic analyses of raw reads

The Illumina raw sequence reads were processed separately for each library using the OBITools software suite (Boyer et al., 2016), specifically dedicated to metabarcoding data processing. First, the raw paired-ends were assembled using the *illuminapairedend* program, and the sequences with a low alignment score (fastq average quality score < 40) were discarded. The aligned sequences were then assigned to the corresponding PCR replicates with the program *ngsfilter*, by allowing zero and two mismatches on tags and primers, respectively. Strictly identical sequences were dereplicated using the program *obuniq*, and a basic filtration step was performed with the *obigrep* program to select sequences within the expected range length (i.e., longer than 65 or 39 bp for Fungi and Bacteria, respectively, excluding tags and primers), without ambiguous nucleotides, and observed at least 10 times in at least one PCR replicate.

The remaining unique sequences were grouped and assigned to Molecular Taxonomic Units (MOTUs) with a 97% sequence identity using the *Sumatra* and *Sumacrust* programs (Mercier et al., 2013). The *Sumatra* algorithm computes pairwise similarities among sequences based on the length of the Longest Common Subsequence and the *Sumacrust* program uses these similarities to cluster the sequences (Mercier et al., 2013). Abundance of sequences belonging to the same cluster were summed up and the cluster center was defined as the MOTU representative of the cluster (Mercier et al., 2013).

The taxonomic classification of each MOTU was performed using the *ecotag* program (Boyer et al., 2016), which uses full-length metabarcodes as references. The *ecoPCR* program (Ficetola et al., 2010) was used to build the metabarcode reference database for each marker. Briefly, *ecoPCR* performs an *in silico* amplification within the EMBL public database (release 133) using the Fung02 and Bact02 primer pairs and allowing a

maximum of three mismatches per primer. The resultant reference database was further refined by keeping only sequence records assigned at the species, genus and family levels.

After taxonomic assignment datasets were acquired, further processing with the open source R software (R studio interface, version 3.4.1) was performed to filter out chimeras, potential contaminants, chimeras and failed PCR replicates. More specifically, MOTUs that were highly dissimilar to any reference sequence (sequence identity < 0.95) were considered as chimeras and discarded. Secondly, MOTUs whose abundance was higher in extraction or PCR negatives were also excluded. Finally, PCR replicates inconstantly distant from the barycenter of the four PCR replicates corresponding to the same sample were considered as dysfunctional and discarded. The remaining PCR replicates were summed up per sample.

Data analysis

Unless specified otherwise, all exploratory statistical analyses were achieved with R. Rarefaction and extrapolation curves were obtained with the *iNext* 2.0-12 package (Hsieh et al., 2016), to investigate the gain in species richness as we increased the sequencing depth for each sample. Alpha diversity estimators including Shannon and Chao1 were calculated with the *phyloseq* 1.22-3 package (McMurdie and Holmes, 2013), on data rarefied to the same sequencing depth per sample type (see Table S10 for details on the rarefaction depths). Non-metric multidimensional scaling (NMDS) ordination analysis was performed to decipher the temporal patterns in airborne microbial community structures (phylum or class taxonomic group) in air samples. These analyses were achieved with the *metaMDS* function within the *vegan* package (Oksanen et al., 2019) with the number random starts set to 500. The NMDS ordinations were obtained using pairwise dissimilarity matrices based on Bray Curtis index. The *envfit* function implemented in *vegan* was used to assess the airborne microbial communities that could explain the temporal dynamics of ambient SC species concentrations. Pairwise analysis of similarity (ANOSIM) was performed to assess similarity between groups of PM₁₀ aerosols sample. This was achieved using the *anosim* function of *vegan* (Oksanen et al., 2019), with the number of permutations sets to 999. Spearman's rank correlation analysis was used to investigate further the relationship between airborne microbial communities and SC species.

To gain further insight into the dominant source of SC-associated microbial communities, NMDS analysis based on Horn distance was performed to compare the microbial community composition similarities between PM₁₀ aerosols, soils, and leaf samples.

Supplementary Materials

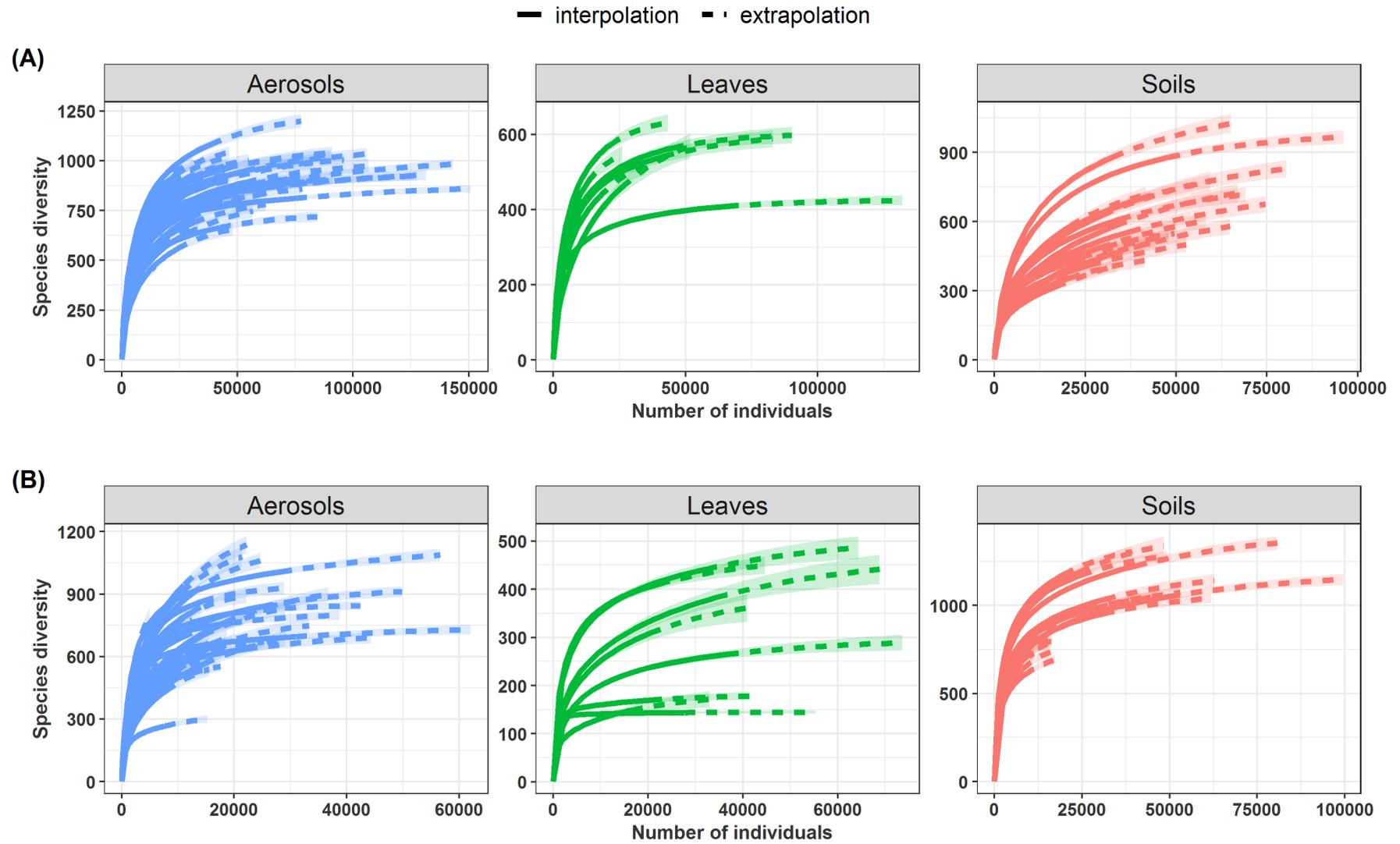


Figure S44: Rarefaction curves of MOTUs abundance grouped by types of samples. (A) Fungal and (B) Bacterial MOTUs. Solid curves represent the observations while the dashed ones show the interpolation.

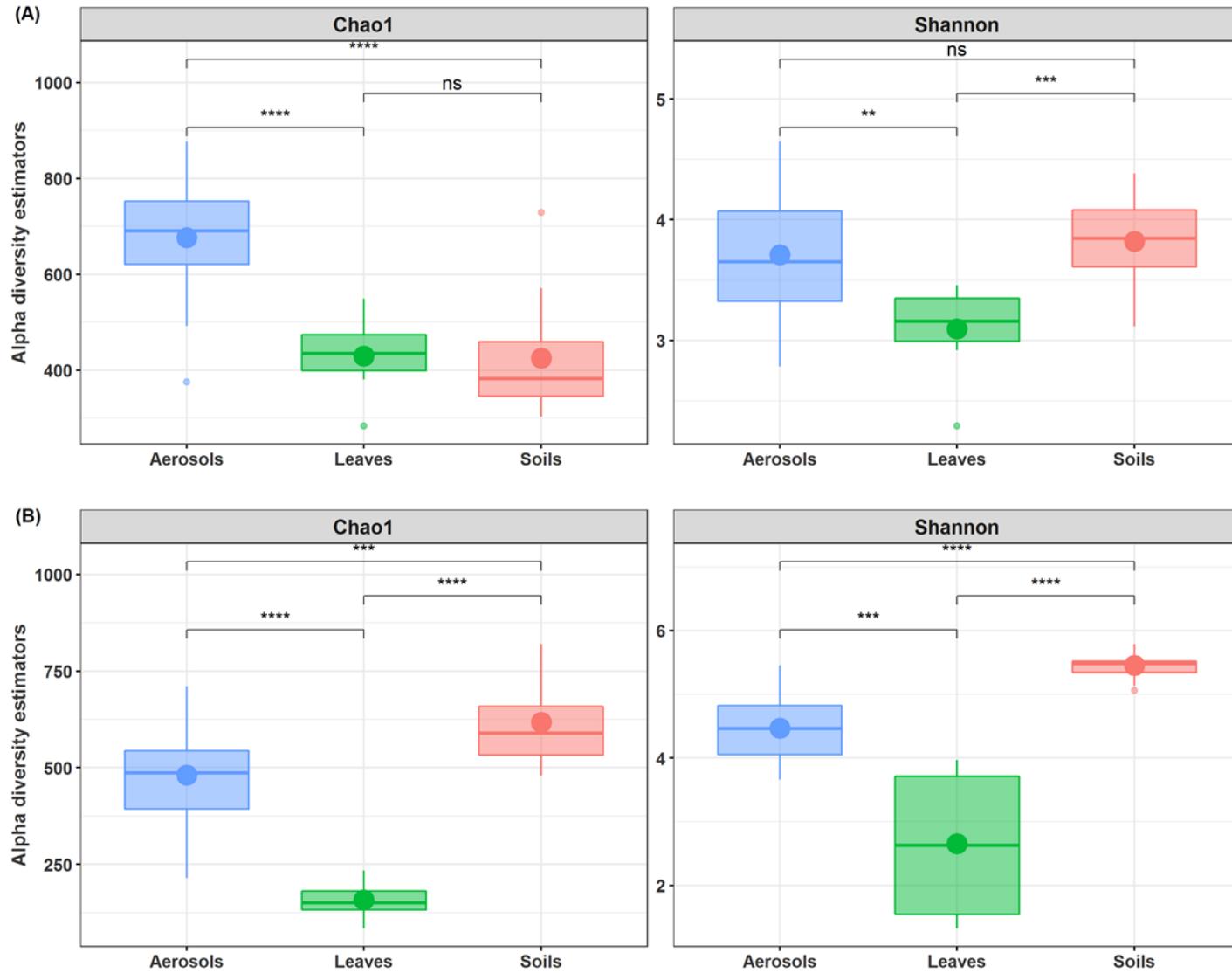


Figure S45: Statistical comparisons of MOTUs richness and diversity across different types of samples. (A) Fungal and (B) bacterial MOTUs abundance. Data sets are rarefied at the same sequencing depth for each library.

Chapitre 5 : Communautés microbiennes associés aux sucres primaires et leur origine biogénique

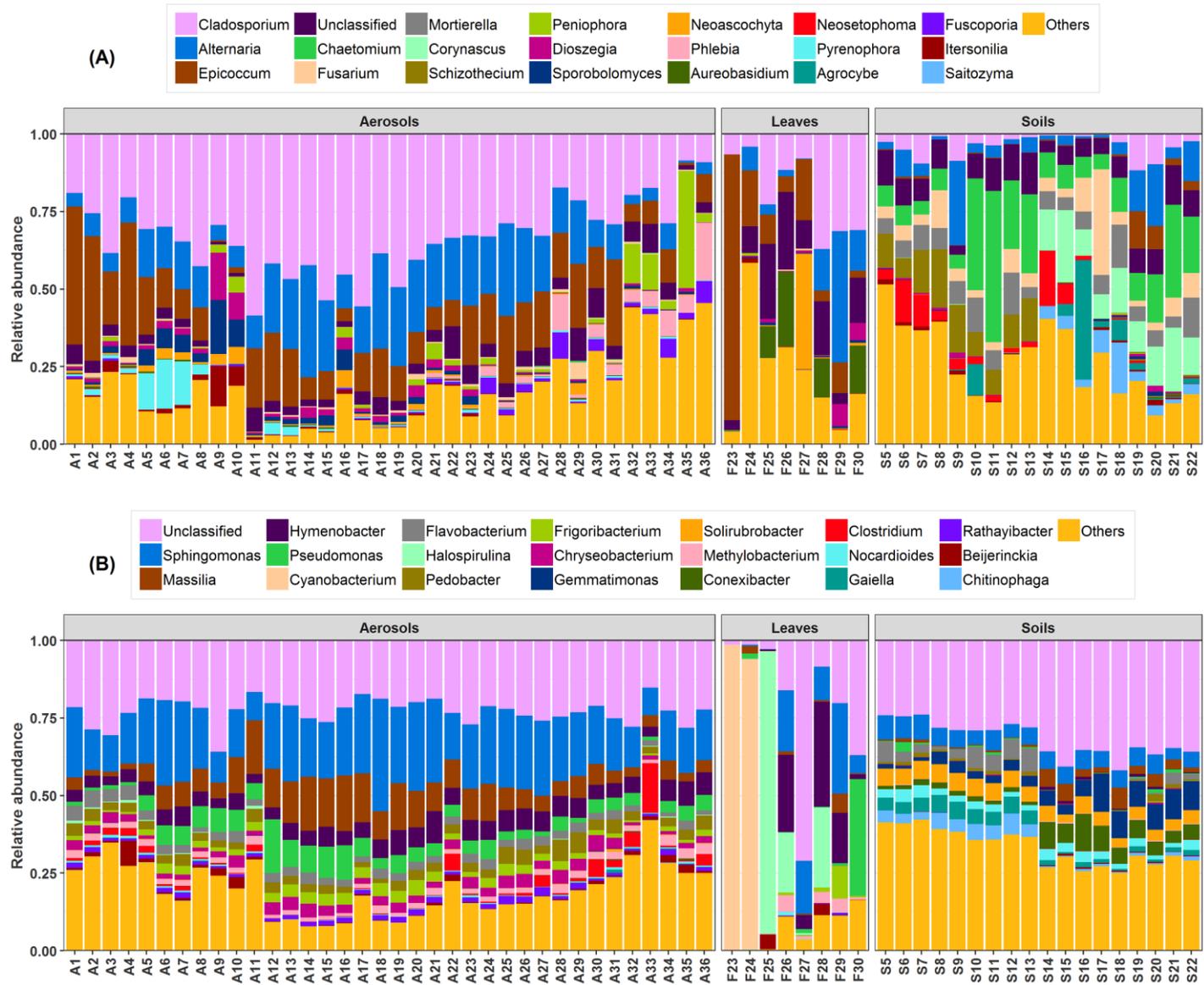


Figure S46: Temporal dynamics of microbial relative abundance (normalized to sum 1). Only the most pronounced top 21 of respectively (A) fungal (B) and bacterial genera are labelled.

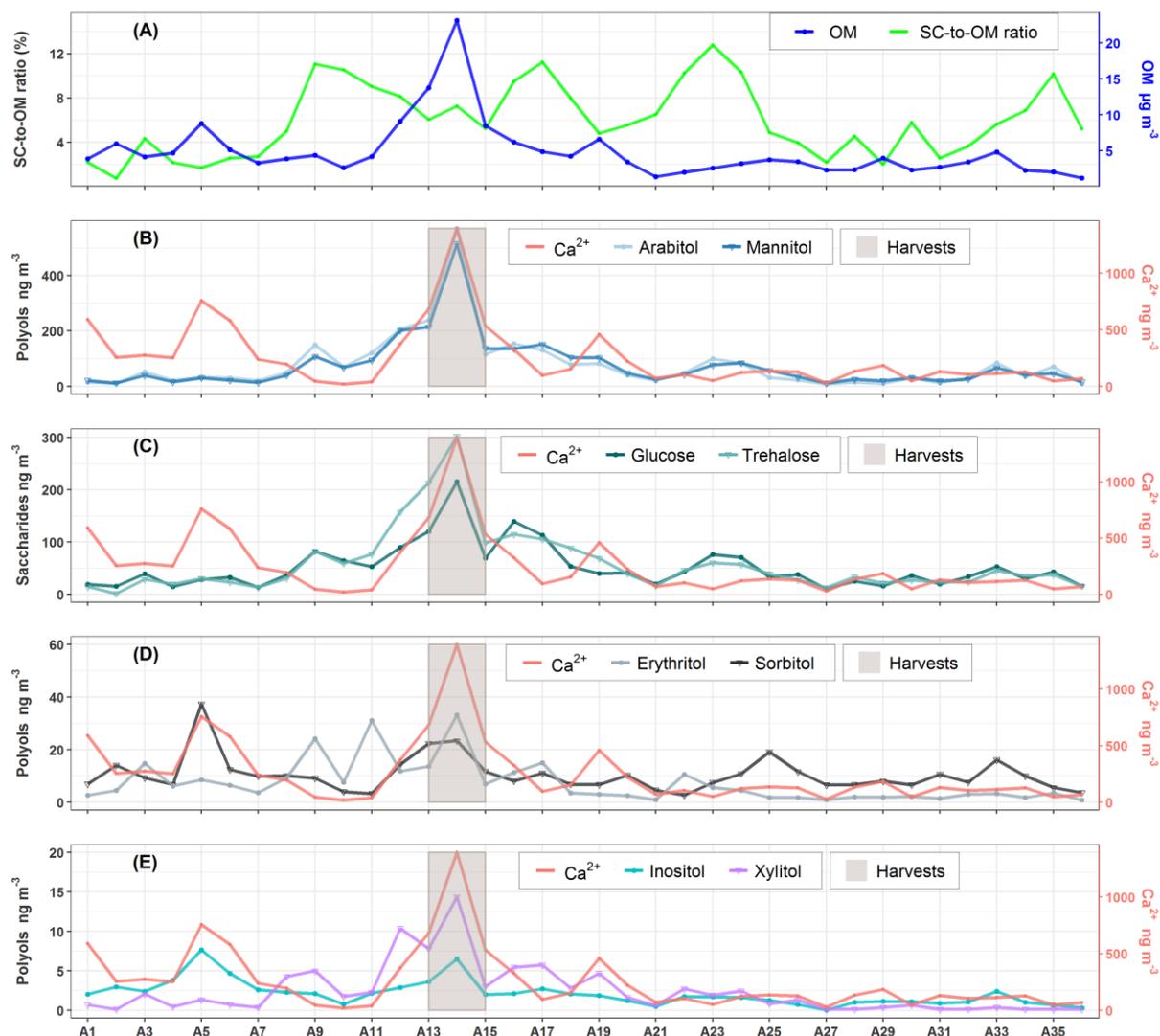


Figure S47: Atmospheric concentrations of carbonaceous components in PM_{10} . Temporal variations of primary sugar compounds in composite PM_{10} and calcium concentrations along with daily agricultural activities performed around the study site.

Chapitre 5 : Communautés microbiennes associés aux sucres primaires et leur origine biogénique

Table S9: **Identification of PM₁₀ composite sample.** Some daily filter samples were pooled together to form the composite samples used in MiSeq sequencing analysis.

Sampling date		Sample identifier
12/06/2017	14/06/2017	A1
	15/06/2017	A2
16/06/2017	17/06/2017	A3
18/06/2017	19/06/2017	A4
22/06/2017	23/06/2017	A5
24/06/2017	25/06/2017	A6
	26/06/2017	A7
27/06/2017	28/06/2017	A8
29/06/2017	30/06/2017	A9
	01/07/2017	A10
02/07/2017	03/07/2017	A11
04/07/2017	06/07/2017	A12
	07/07/2017	A13
	08/07/2017	A14
	09/07/2017	A15
	10/07/2017	A16
11/07/2017	12/07/2017	A17
14/07/2017	15/07/2017	A18
17/07/2017	18/07/2017	A19
22/07/2017	23/07/2017	A20
	24/07/2017	A21
25/07/2017	26/07/2017	A22
	27/07/2017	A23
28/07/2017	29/07/2017	A24
30/07/2017	31/07/2017	A25
	01/08/2017	A26
02/08/2017	03/08/2017	A27
06/08/2017	07/08/2017	A28
	08/08/2017	A29
09/08/2017	10/08/2017	A30
13/08/2017	15/08/2017	A31
	16/08/2017	A32
	17/08/2017	A33
	18/08/2017	A34
	19/08/2017	A35
20/08/2017	21/08/2017	A36

Table S10: **Minimum number of MOTUs reads per sample types.** Unless specified otherwise, samples are randomly normalized to the smallest number of reads for within and between sample comparisons.

	Aerosols (PM ₁₀)	Leaves	Surface soils
Fungi	7 223	6 628	4 287
Bacteria	2 865	16 502	5 043

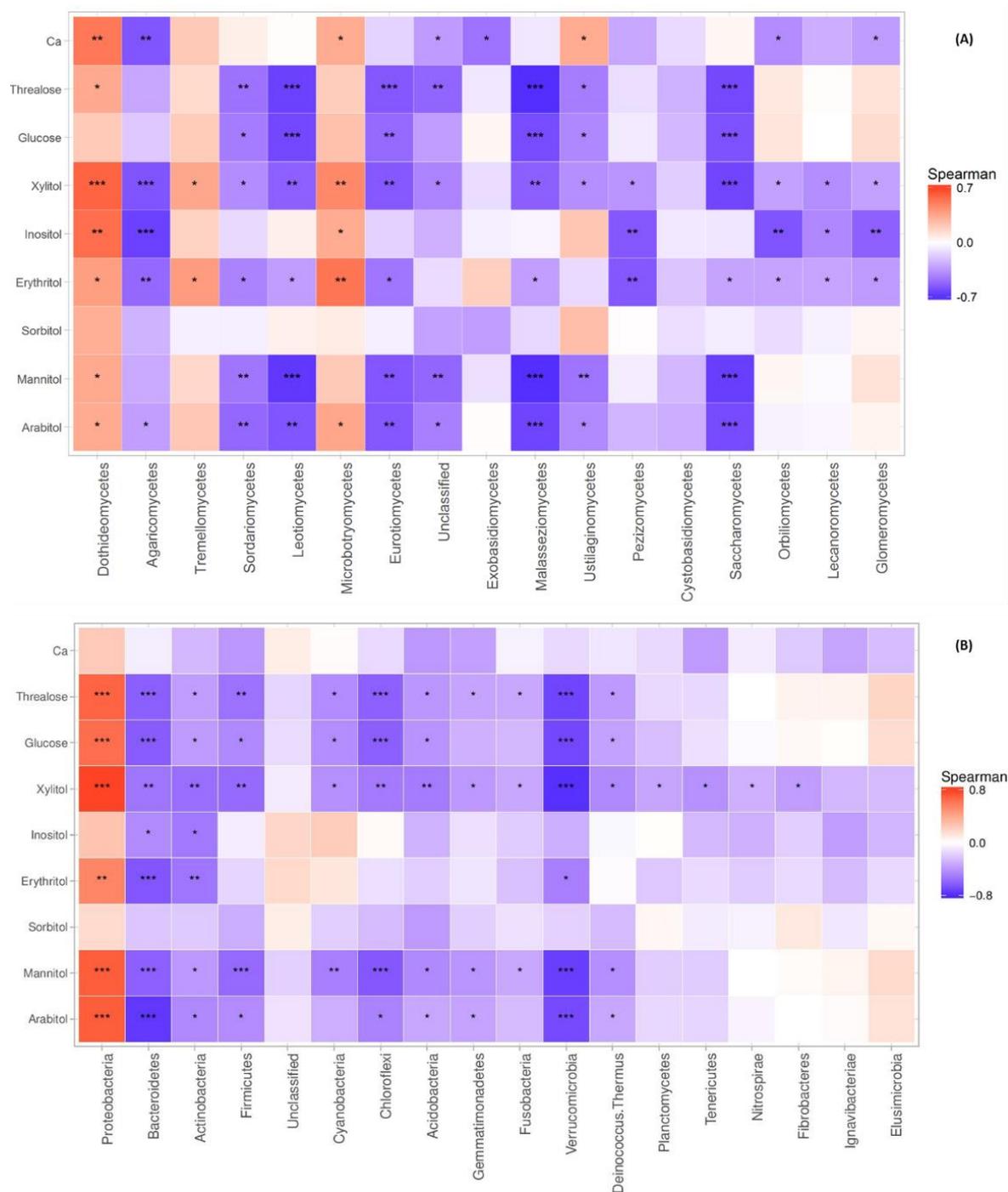


Figure S48 : Heatmap of Spearman's rank correlation between SCs and abundance of airborne communities at the study site. (A) Fungal class-level (B) bacterial phylum-level, respectively. Only genera with relative abundance ≥ 1 are shown.

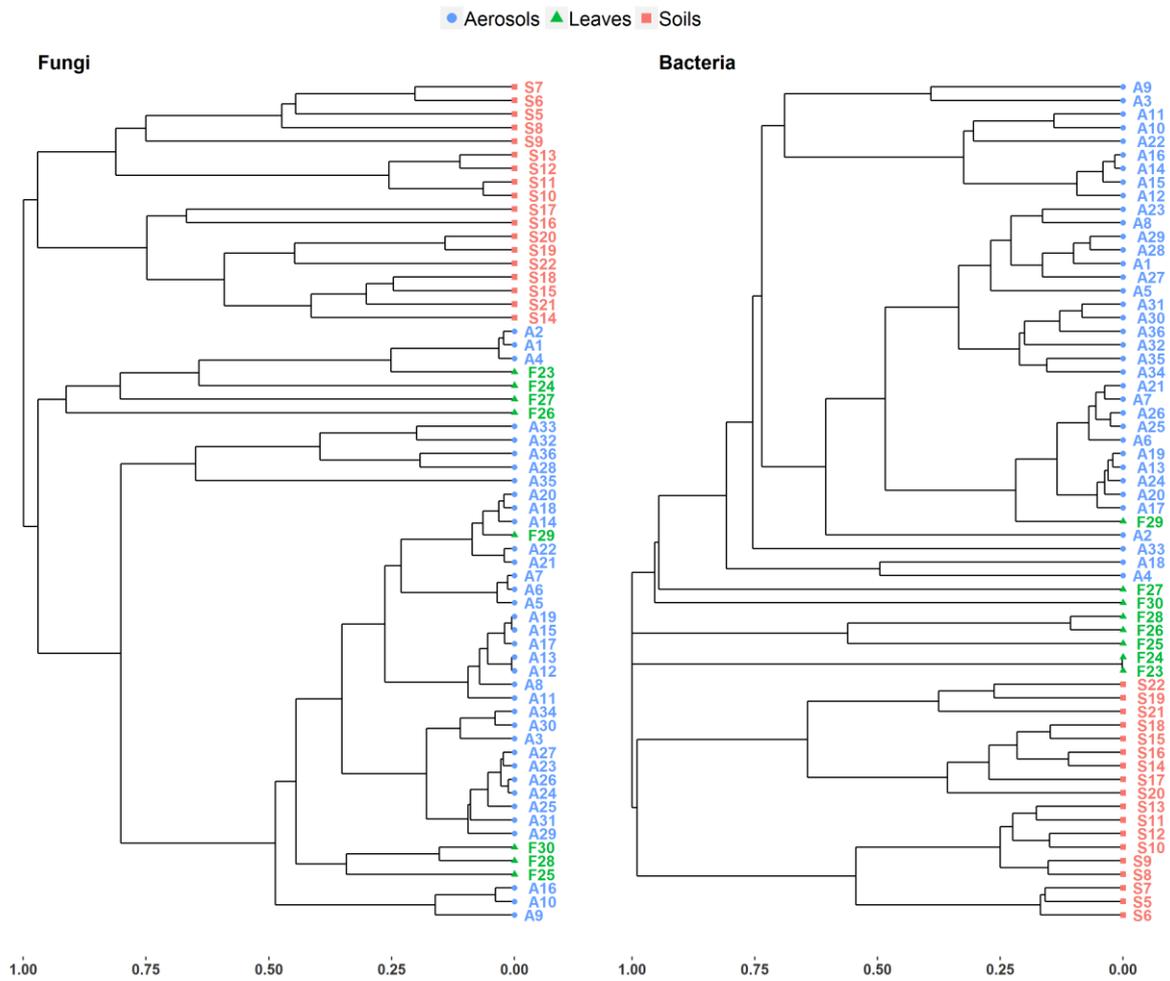


Figure S49 : Unsupervised hierarchical clustering of all samples (Aerosols, Leaves and Soils) based on Horn distance matrix. Dissimilarity matrixes have been calculated on the rarefied MOTUs tables.

References and notes

1. O. Boucher, D. Randall, P. Artaxo, C. Bretherton, G. Feingold, P. Forster, V.-M. Kerminen, Y. Kondo, H. Liao, U. Lohmann, in *Climate change 2013: the physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (Cambridge University Press, 2013), pp. 571–657.
2. J. Fröhlich-Nowoisky, C. J. Kampf, B. Weber, J. A. Huffman, C. Pöhlker, M. O. Andreae, N. Lang-Yona, S. M. Burrows, S. S. Gunthe, W. Elbert, H. Su, P. Hoor, E. Thines, T. Hoffmann, V. R. Després, U. Pöschl, *Bioaerosols in the Earth system: Climate, health, and ecosystem interactions. Atmos. Res.* **182**, 346–376 (2016)
3. F. J. Kelly, J. C. Fussell, *Air pollution and public health: emerging hazards and improved understanding of risk. Environ. Geochem. Health.* **37**, 631–649 (2015).
4. C. A. Pope, D. W. Dockery, *Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect. J. Air Waste Manag. Assoc.* **56**, 709–742 (2006).
5. C. Yan, A. P. Sullivan, Y. Cheng, M. Zheng, Y. Zhang, T. Zhu, J. L. Collett, *Characterization of saccharides and associated usage in determining biogenic and biomass burning aerosols in atmospheric fine particulate matter in the North China Plain. Sci. Total Environ.* **650**, 2939–2950 (2019)
6. E. Coz, B. Artíñano, L. M. Clark, M. Hernandez, A. L. Robinson, G. S. Casuccio, T. L. Lersch, S. N. Pandis, *Characterization of fine primary biogenic organic aerosol in an urban area in the northeastern United States. Atmos. Environ.* **44**, 3952–3962 (2010)
7. W. Elbert, P. E. Taylor, M. O. Andreae, U. Pöschl, *Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: wet and dry discharged spores, carbohydrates, and inorganic ions. Atmos. Chem. Phys.* **7**, 4569–4588 (2007).
8. P. Amato, E. Brisebois, M. Draghi, C. Duchaine, J. Fröhlich-Nowoisky, J. A. Huffman, G. Mainelis, E. Robine, M. Thibaudon, in *Microbiology of Aerosols* (John Wiley & Sons, Ltd, 2017; <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119132318.ch1a>), pp. 1–21.
9. P. B. Lecours, C. Duchaine, M. Thibaudon, D. Marsolais, in *Microbiology of Aerosols* (John Wiley & Sons, Ltd, 2017; <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119132318.ch4a>), pp. 249–268.
10. T. C. J. Hill, P. J. DeMott, F. Conen, O. Möhler, in *Microbiology of Aerosols* (John Wiley & Sons, Ltd, 2017; <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119132318.ch3a>), pp. 195–219.
11. X. Yu, Z. Wang, M. Zhang, U. Kuhn, Z. Xie, Y. Cheng, U. Pöschl, H. Su, *Ambient measurement of fluorescent aerosol particles with a WBS in the Yangtze River Delta of China: potential impacts of combustion-related aerosol particles. Atmos. Chem. Phys.* **16**, 11337–11348 (2016).
12. A. Dommergue, P. Amato, R. Tignat-Perrier, O. Magand, A. Thollot, M. Joly, L. Bouvier, K. Sellegri, T. Vogel, J. E. Sonke, J.-L. Jaffrezo, M. Andrade, I. Moreno, C. Labuschagne, L. Martin, Q. Zhang, C. Larose, *Methods to Investigate the Global Atmospheric Microbiome. Front. Microbiol.* **10**, 243 (2019)

13. C. Bozzetti, K. R. Daellenbach, C. Hueglin, P. Fermo, J. Sciare, A. Kasper-Giebl, Y. Mazar, G. Abbaszade, M. El Kazzi, Gonzalez, R., T. Shuster-Meiseles, M. Flasch, R. Wolf, A. Křepelová, F. Canonaco, J. Schnelle-Kreis, J. G. Slowik, R. Zimmermann, Y. Rudich, U. Baltensperger, I. El Haddad, A. S. H. Prévôt, Size-Resolved Identification, Characterization, and Quantification of Primary Biological Organic Aerosol at a European Rural Site. *Environ. Sci. Technol.* **50**, 3425–3434 (2016).
14. A. Samaké, J.-L. Jaffrezo, O. Favez, S. Weber, V. Jacob, A. Albinet, V. Riffault, E. Perdrix, A. Waked, B. Golly, D. Salameh, F. Chevrier, D. M. Oliveira, N. Bonnaire, J.-L. Besombes, J. M. F. Martins, S. Conil, G. Guillaud, B. Mesbah, B. Rocq, P.-Y. Robic, A. Hulin, S. L. Meur, M. Descheemaeker, E. Chretien, N. Marchand, G. Uzu, Polyols and glucose particulate species as tracers of primary biogenic organic aerosols at 28 French sites. *Atmos. Chem. Phys.* **19**, 3357–3374 (2019)
15. M. I. Gosselin, C. M. Rathnayake, I. Crawford, C. Pöhlker, J. Fröhlich-Nowoisky, B. Schmer, V. R. Després, G. Engling, M. Gallagher, E. Stone, U. Pöschl, J. A. Huffman, Fluorescent bioaerosol particle, molecular tracer, and fungal spore concentrations during dry and rainy periods in a semi-arid forest. *Atmos. Chem. Phys.* **16**, 15165–15184 (2016)
16. J. A. Huffman, J. Santarpia, in *Microbiology of Aerosols* (John Wiley & Sons, Ltd, 2017; <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119132318.ch1d>), pp. 83–114.
17. P. M. Medeiros, M. H. Conte, J. C. Weber, B. R. T. Simoneit, Sugars as source indicators of biogenic organic carbon in aerosols collected above the Howland Experimental Forest, Maine. *Atmos. Environ.* **40**, 1694–1705 (2006).
18. M. C. Pietrogrande, D. Bacco, M. Visentin, S. Ferrari, P. Casali, Polar organic marker compounds in atmospheric aerosol in the Po Valley during the Supersito campaigns — Part 2: Seasonal variations of sugars. *Atmos. Environ.* **97**, 215–225 (2014).
19. G. Ciarelli, S. Aksoyoglu, M. Crippa, J.-L. Jimenez, E. Nemitz, K. Sellegri, M. Äijälä, S. Carbone, C. Mohr, C. O’Dowd, L. Poulain, U. Baltensperger, A. S. H. Prévôt, Evaluation of European air quality modelled by CAMx including the volatility basis set scheme. *Atmos. Chem. Phys.* **16**, 10313–10332 (2016)
20. Y. Jia, A. L. Clements, M. P. Fraser, Saccharide composition in atmospheric particulate matter in the southwest US and estimates of source contributions. *J. Aerosol Sci.* **41**, 62–73 (2010).
21. H. Bauer, M. Claeys, R. Vermeylen, E. Schueller, G. Weinke, A. Berger, H. Puxbaum, Arabitol and mannitol as tracers for the quantification of airborne fungal spores. *Atmos. Environ.* **42**, 588–593 (2008)
22. S. K. Verma, K. Kawamura, J. Chen, P. Fu, Thirteen years of observations on primary sugars and sugar alcohols over remote Chichijima Island in the western North Pacific. *Atmos. Chem. Phys.* **18**, 81–101 (2018).
23. S. Bougouffa, A. Radovanovic, M. Essack, V. B. Bajic, DEOP: a database on osmoprotectants and associated pathways. *Database.* **2014** (2014), doi:10.1093/database/bau100.

24. E. Barbaro, T. Kirchgeorg, R. Zangrando, M. Vecchiato, R. Piazza, C. Barbante, A. Gambaro, Sugars in Antarctic aerosol. *Atmos. Environ.* **118**, 135–144 (2015)
25. S. Weber, G. Uzu, A. Calas, F. Chevrier, J.-L. Besombes, A. Charron, Salameh, D., I. Ježek, G. Močnik, J.-L. Jaffrezo, An apportionment method for the oxidative potential of atmospheric particulate matter sources: application to a one-year study in Chamonix, France. *Atmos. Chem. Phys.* **18**, 9617–9629 (2018)
26. P. Taberlet, A. Bonin, L. Zinger, E. Coissac, *Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring* (Oxford University Press, Oxford, New York, 2018).
27. R. M. Bowers, A. P. Sullivan, E. K. Costello, J. L. Collett, R. Knight, N. Fiereri, Sources of Bacteria in Outdoor Air across Cities in the Midwestern United States. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**, 6350–6356 (2011).
28. J. Huerta-Cepas, F. Serra, P. Bork, ETE 3: Reconstruction, Analysis, and Visualization of Phylogenomic Data. *Mol. Biol. Evol.* **33**, 1635–1638 (2016).
29. L. Liang, G. Engling, Z. Du, Y. Cheng, F. Duan, X. Liu, K. He, Seasonal variations and source estimation of saccharides in atmospheric particulate matter in Beijing, China. *Chemosphere.* **150**, 365–377 (2016).
30. C. F. Fortenberry, M. J. Walker, Y. Zhang, D. Mitroo, W. H. Brune, B. J. Williams, Bulk and molecular-level characterization of laboratory-aged biomass burning organic aerosol from oak leaf and heartwood fuels. *Atmos. Chem. Phys.* **18**, 2199–2224 (2018)
31. A. M. Womack, P. E. Artaxo, F. Y. Ishida, R. C. Mueller, S. R. Saleska, K. T. Wiedemann, B. J. M. Bohannan, J. L. Green, Characterization of active and total fungal communities in the atmosphere over the Amazon rainforest. *Biogeosciences.* **12**, 6337–6349 (2015).
32. D. Moore, G. D. Robson, A. P. J. Trinci, *21st Century Guidebook to Fungi* (Cambridge University Press, Cambridge, 2011; <https://www.cambridge.org/core/books/21st-century-guidebook-to-fungi/712C1D684EB1391CB437B2AB4E99C558>).
33. T. Y. James, F. Kauff, C. L. Schoch, P. B. Matheny, V. Hofstetter, C. J. Cox, G. Celio, C. Gueidan, E. Fraker, J. Miadlikowska, H. T. Lumbsch, A. Rauhut, V. Reeb, A. E. Arnold, A. Amtoft, J. E. Stajich, K. Hosaka, G.-H. Sung, D. Johnson, B. O'Rourke, M. Crockett, M. Binder, J. M. Curtis, J. C. Slot, Z. Wang, A. W. Wilson, A. Schüßler, J. E. Longcore, K. O'Donnell, S. Mozley-Standridge, D. Porter, P. M. Letcher, M. J. Powell, J. W. Taylor, M. M. White, G. W. Griffith, D. R. Davies, R. A. Humber, J. B. Morton, J. Sugiyama, A. Y. Rossman, J. D. Rogers, D. H. Pfister, D. Hewitt, K. Hansen, S. Hambleton, R. A. Shoemaker, J. Kohlmeyer, B. Volkmann-Kohlmeyer, R. A. Spotts, M. Serdani, P. W. Crous, K. W. Hughes, K. Matsuura, E. Langer, G. Langer, W. A. Untereiner, R. Lücking, B. Büdel, D. M. Geiser, A. Aptroot, P. Diederich, I. Schmitt, M. Schultz, R. Yahr, D. S. Hibbett, F. Lutzoni, D. J. McLaughlin, J. W. Spatafora, R. Vilgalys, Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature.* **443**, 818–822 (2006).
34. H. Liu, Z. Hu, M. Zhou, J. Hu, X. Yao, H. Zhang, Z. Li, L. Lou, C. Xi, H. Qian, C. Li, X. Xu, P. Zheng, B. Hu, The distribution variance of airborne microorganisms in urban and rural environments. *Environ. Pollut.* **247**, 898–906 (2019).

35. P.-A. Maron, D. P. H. Lejon, E. Carvalho, K. Bizet, P. Lemanceau, L. Ranjard, C. Mougel, Assessing genetic structure and diversity of airborne bacterial communities by DNA fingerprinting and 16S rDNA clone library. *Atmos. Environ.* **39**, 3687–3695 (2005).
36. M. Wei, C. Xu, X. Xu, C. Zhu, J. Li, G. Lv, Size distribution of bioaerosols from biomass burning emissions: Characteristics of bacterial and fungal communities in submicron (PM_{1.0}) and fine (PM_{2.5}) particles. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **171**, 37–46 (2019).
37. M. Itävaara, H. Salavirta, K. Marjamaa, T. Ruskeenieni, in *Advances in Applied Microbiology* (Elsevier, 2016; <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065216415300010>), vol. 94, pp. 1–77.
38. A. N. Yadav, P. Verma, S. G. Sachan, R. Kaushik, A. K. Saxena, in *Microorganisms for Green Revolution*, D. G. Panpatte, Y. K. Jhala, H. N. Shelat, R. V. Vyas, Eds. (Springer Singapore, Singapore, 2018; http://link.springer.com/10.1007/978-981-10-7146-1_11), vol. 7, pp. 197–240.
39. M. Wei, C. Xu, X. Xu, C. Zhu, J. Li, G. Lv, Characteristics of atmospheric bacterial and fungal communities in PM_{2.5} following biomass burning disturbance in a rural area of North China Plain. *Sci. Total Environ.* **651**, 2727–2739 (2019).
40. K. Hryniewicz, C. Baum, P. Leinweber, Density, metabolic activity, and identity of cultivable rhizosphere bacteria on *Salix viminalis* in disturbed arable and landfill soils. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **173**, 747–756 (2010).
41. M. Oliveira, H. Ribeiro, J. L. Delgado, I. Abreu, The effects of meteorological factors on airborne fungal spore concentration in two areas differing in urbanisation level. *Int. J. Biometeorol.* **53**, 61–73 (2009).
42. J. Cáliz, X. Triadó-Margarit, L. Camarero, E. O. Casamayor, A long-term survey unveils strong seasonal patterns in the airborne microbiome coupled to general and regional atmospheric circulations. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **115**, 12229 (2018).
43. M. Ofek, Y. Hadar, D. Minz, Ecology of Root Colonizing Massilia (Oxalobacteraceae). *PLoS ONE.* **7**, e40117 (2012).
44. M. Kuffner et al., Culturable bacteria from Zn- and Cd-accumulating *Salix caprea* with differential effects on plant growth and heavy metal availability. *J. Appl. Microbiol.* **108**, 1471–1484 (2010).
45. N. Weinert et al., Effects of genetically modified potatoes with increased zeaxanthin content on the abundance and diversity of rhizobacteria with in vitro antagonistic activity do not exceed natural variability among cultivars. *Plant Soil.* **326**, 437–452 (2010).
46. D. S. Lymeropoulou, R. I. Adams, S. E. Lindow, Contribution of Vegetation to the Microbial Composition of Nearby Outdoor Air. *Appl. Environ. Microbiol.* **82**, 3822–3833 (2016).
47. T. W. Ng, M. Ip, C. Y. H. Chao, J. W. Tang, K. P. Lai, S. C. Fu, W. T. Leung, K. M. Lai, Differential gene expression in *Escherichia coli* during aerosolization from liquid suspension. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **102**, 6257–6267 (2018).

48. C. Xue, T. Liu, L. Chen, W. Li, I. Liu, J. W. Kronstad, A. Seyfang, J. Heitman, Role of an Expanded Inositol Transporter Repertoire in *Cryptococcus neoformans* Sexual Reproduction and Virulence. *mBio*. **1** (2010), doi:10.1128/mBio.00084-10.
49. D. T. Welsh, Ecological significance of compatible solute accumulation by micro-organisms: from single cells to global climate. *FEMS Microbiol. Rev.* **24**, 263–290 (2000).
50. A. Samaké, J.-L. Jaffrezo, O. Favez, S. Weber, V. Jacob, T. Canete, A. Albinet, A. Charron, V. Riffault, E. Perdrix, A. Waked, B. Golly, D. Salameh, F. Chevrier, D. M. Oliveira, N. Bonnaire, J.-L. Besombes, J. M. F. Martins, S. Conil, G. Guillaud, B. Mesbah, B. Rocq, P.-Y. Robic, A. Hulin, S. L. Meur, M. Descheemaeker, E. Chretien, N. Marchand, G. Uzu, Samaké, A., Jaffrezo, J.-L., Favez, O., Weber, S., Jacob, V., Canete, T., Albinet, A., Charron, A., Riffault, V., Perdrix, E., Waked, A., Golly, B., Salameh, D., Chevrier, F., Oliveira, D. M., Besombes, J.-L., Martins, J. M. F., Bonnaire, N., Conil, S., Guillaud, G., Mesbah, B., Rocq, B., Robic, P.-Y., Hulin, A., Le Meur, S., Descheemaeker, M., Chretien, E., Marchand, N. and Uzu, G.: Arabitol, mannitol, and glucose as tracers of primary biogenic organic aerosol: the influence of environmental factors on ambient air concentrations and spatial distribution over France, *Atmos. Chem. Phys.*, **19**(16), 11013–11030, doi:10.5194/acp-19-11013-2019, 2019.
51. G. L. Andersen, A. S. Frisch, C. A. Kellogg, E. Levetin, B. Lighthart, D.G. L. Paterno, Aeromicrobiology/Air Quality, in *Encyclopedia of Microbiology*, pp. 11–26, Elsevier., 2009.
52. E. L. Aydogan, G. Moser, C. Müller, P. Kämpfer, S. P. Glaeser, Long-Term Warming Shifts the Composition of Bacterial Communities in the Phyllosphere of *Galium album* in a Permanent Grassland Field-Experiment. *Front. Microbiol.* **9**, 144 (2018).
53. G. Rastogi, G. L. Coaker, J. H. J. Leveau, New insights into the structure and function of phyllosphere microbiota through high-throughput molecular approaches. *FEMS Microbiol. Lett.* **348**, 1–10 (2013).
54. L. Jocteur Monrozier, P. Guez, A. Chalamet, R. Bardin, J. Martins, J.P. Gaudet, Distribution of microorganisms and fate of xenobiotic molecules in unsaturated soil environments. *Sci. Total Environ.* **136**, 121–133 (1993).
55. B. Golly, A. Waked, S. Weber, A. Samaké, V. Jacob, S. Conil, J. Rangognio, E. Chrétien, M.-P. Vagnot, P.-Y. Robic, J.-L. Besombes, J.-L. Jaffrezo, Organic markers and OC source apportionment for seasonal variations of PM_{2.5} at 5 rural sites in France. *Atmos. Environ.* **198**, 142–157 (2018)
56. A. Waked, O. Favez, L. Y. Alleman, C. Piot, J.-E. Petit, T. Delaunay, E. Verlinden, B. Golly, J.-L. Besombes, J.-L. Jaffrezo, E. Leoz-Garziandia, Source apportionment of PM₁₀ in a north-western Europe regional urban background site (Lens, France) using positive matrix factorization and including primary biogenic emissions. *Atmos. Chem. Phys.* **14**, 3325–3346 (2014).
57. F. Cavalli, M. Viana, K. E. Yttri, J. Genberg, J.-P. Putaud, Toward a standardised thermal-optical protocol for measuring atmospheric organic and elemental carbon: the EUSAAR protocol. *Atmos. Meas. Tech.* **3**, 79–89 (2010).
58. I. Luhung, Y. Wu, C. K. Ng, D. Miller, B. Cao, V. W.-C. Chang, Protocol Improvements for Low Concentration DNA-Based Bioaerosol Sampling and Analysis. *PLOS ONE*. **10**, e0141158 (2015).

59. W. Jiang, P. Liang, B. Wang, J. Fang, J. Lang, G. Tian, J. Jiang, T. F. Zhu, Optimized DNA extraction and metagenomic sequencing of airborne microbial communities. *Nat. Protoc.* **10**, 768–779 (2015).
60. F. Boyer, C. Mercier, A. Bonin, Y. Le Bras, P. Taberlet, E. Coissac, OBITOOLS : a UNIX - inspired software package for DNA metabarcoding. *Mol. Ecol. Resour.* **16**, 176–182 (2016).
61. I. B. Schnell, K. Bohmann, M. T. P. Gilbert, Tag jumps illuminated - reducing sequence-to-sample misidentifications in metabarcoding studies. *Mol. Ecol. Resour.* **15**, 1289–1303 (2015).
62. C. Mercier, F. Boyer, E. Kopylova, P. Taberlet, A. Bonin, E. Coissac (2013), SUMATRA and SUMACLUSTR: Fast and exact comparison and clustering of sequences. *Programs and Abstracts of the SeqBio 2013 Workshop*, pp. 27–29.
63. G. Ficetola, E. Coissac, S. Zundel, T. Riaz, W. Shehzad, J. Bessièrè, P. Taberlet, F. Pompanon, An In silico approach for the evaluation of DNA barcodes. *BMC Genomics.* **11**, 434 (2010).
64. T. C. Hsieh, K. H. Ma, A. Chao, iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers). *Methods Ecol. Evol.* **7**, 1451–1456 (2016).
65. P. J. McMurdie, S. Holmes, phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE.* **8**, e61217 (2013).
66. J. Oksanen, F. G. Blanchet, M. Friendly, R. Kindt, P. Legendre, D. McGlenn, P. R. Minchin, R. B. O'Hara, G. L. Simpson, P. Solymos, M. H. H. Stevens, E. Szoecs, H. Wagner, *Vegan: Community Ecology Package* (2019).

Acknowledgements: We acknowledge the work of many engineers in the lab at the Institut des Géosciences de L'environnement for the analyses (Anthony Vella, Vincent Lucaire). The authors would like to kindly thank the dedicated efforts of many other people at the sampling sites and in the laboratories for collecting and analyzing the samples. We thank Samuël Weber for help in use of *ETE3* package. **Funding:** The PhD of Abdoulaye Samaké is funded by the Government of Mali. We gratefully acknowledge the LEFE-CHAT and EC2CO programs of the CNRS for financial supports of the CAREMBIOS multidisciplinary project. Chemical and microbiological analytical aspects were supported at IGE by the Air-O-Sol and MOME platforms, respectively, within Labex OSUG@2020 (ANR10 LABX56). **Author contributions:** J.-L.J., J.-M.-F.M., G.U. supervised the thesis of A.S. and J.-L.J., J.M.F.-M., G.U and A.S. designed the research project. P.T. gives advice for soils and leaves sampling. S.C. supervised the sample collections and provided the agricultural activity records. V.J. developed the analytical techniques for SC species and cellulose measurements. A.S. and A.B. performed the experiments. A.B. performed the bioinformatic analyses. A.S. performed all statistical analyses and wrote the original manuscript draft. S.W. produced the circular phylogenetic trees. All authors reviewed and edited the final manuscript. **Competing interests:** The authors declare that they have no competing interests. **Data and materials availability:** The sequencing data will be made available on <https://datadryad.org/> as soon as the article will be accepted for publication. The chemical data will be available upon request.

Partie 2 : Répétabilité, tendances spatiales et origine biogénique des communautés microbiennes qui contrôlent les émissions sucres primaires particulières vers l'atmosphère

1 Contexte

Nous avons montré dans la première partie de ce chapitre que le niveau de concentration atmosphérique des sucres primaires est déterminé par seulement quelques taxons spécifiques présents dans les PM_{10} prélevés sur le site rural de l'OPE-ANDRA. Nous avons montré aussi que, de manière surprenante, ces taxons proviennent principalement de la végétation environnante. Cependant, on sait que l'abondance et la structure des communautés microbiennes présentes dans les aérosols peuvent varier dans le temps et dans l'espace (Bowers et al., 2009; DeLeon-Rodriguez et al., 2013; Gonzalez et al., 2012). Ainsi, dans cette deuxième partie du chapitre 5, nous avons focalisé nos efforts sur l'étude de la répétabilité du lien entre les taxons spécifiques identifiés et l'évolution temporelle de la concentration des sucres primaires. Un deuxième objectif abordé dans cette partie était de déterminer si, d'un point de régional, les concentrations atmosphériques de sucres primaires dans les PM_{10} sont associées à des microorganismes communs (large distribution) ou rares (distribution locale).

La Figure 50 présente la localisation géographique des 3 sites d'échantillonnage étudiés dans ce chapitre de thèse. Ces sites sont répartis dans différentes régions géographiques et climatiques de France, avec des végétations et des climats différents, offrant donc l'opportunité d'évaluer l'hypothèse de distribution commune ou rare des microorganismes associées aux sucres primaires dans les PM_{10} collectées dans des zones climatiques variées. Le descriptif détaillé des campagnes d'échantillonnage, (périodes exactes, fréquence des prélèvements d'échantillons d'aérosols et type d'écosystème pour chaque site est présenté dans le Chapitre 2).

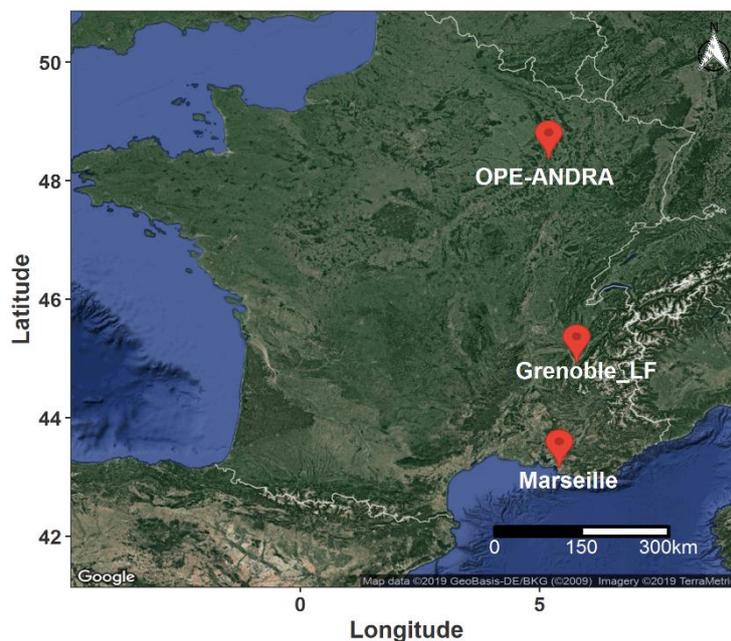


Figure 50 : Localisation géographique des sites sélectionnés pour cette étude.

Comme pour les précédentes campagnes, des prélèvements journaliers de PM_{10} (24 h) ont été réalisés avec des filtres en fibre de quartz pour chacun des sites exploités dans cette étude. Une caractérisation chimique détaillée a été réalisée sur l'ensemble de ces filtres en utilisant les mêmes méthodologies analytiques détaillées dans les chapitres précédents. Comme pour la campagne de l'été

2017, les amplicons d'ADN ont été séquencés en pleine longueur sur la plateforme MiSeq (Fasteris SA) en suivant le protocole de lecture sens et anti sens 2×250 bp (Voir section 2.2.7 du chapitre 2 et la section matérielle et méthode du chapitre 5). L'utilisation des mêmes outils et protocoles analytiques permet d'assurer la comparaison des jeux de données générés au cours des deux campagnes d'échantillonnage réalisées dans ce travail de thèse.

2 Analyses des données :

Les traitements bioinformatiques et statistiques appliqués aux les données ainsi générées sont similaires à ceux déjà présentés dans la première partie du chapitre 5. Un condensé des méthodes statistiques employées est présenté ci-dessous :

- Afin de caractériser la diversité microbienne sur l'ensemble des sites d'études, des estimateurs d'alpha-diversité communément utilisés dans la littérature ont été calculés. Il s'agit plus spécifiquement de l'indice de richesse (Chao1) et les indices de diversité (Shannon et Simpson). L'indice de Chao1 fournit une estimation du nombre d'espèces présentes dans un échantillon, sans prendre en compte leur abondance relative. En ce qui concerne les indices de Shannon et de Simpson, la richesse des espèces est combinée à l'abondance relative pour donner une seule mesure de la diversité.
- Un positionnement multidimensionnel non métrique (NMDS pour *Nonmetric multidimensional scaling* en anglais) a été utilisé pour visualiser les différences entre les sites d'étude en termes de composition taxonomique. La NMDS permet, à partir d'une matrice symétrique contenant des rangs de distance entre échantillons (dissimilarités) d'obtenir une représentation la plus fidèle possible de ces échantillons dans un espace à n dimensions, la proximité entre les échantillons reflète leurs similarités. Des tests de permutation (à l'aide de la fonction *envfit* de la librairie Vegan) ont été utilisés pour étudier les corrélations linéaires entre les concentrations des sucres primaires et les axes NMDS.
- La similarité de la structure des communautés microbiennes entre les sites d'étude et entre les campagnes a été testée par une analyse de la similarité (ANOSIM, analysis of similarities) (Clarke and Warwick, 2001; Oksanen et al., 2019). Cette analyse statistique non paramétrique, analogue à une analyse de variance, permet de comparer la similitude entre les échantillons récoltés pour chacun des groupes d'exploitations.
- Les analyses NMDS ont été complétées par une classification ascendante hiérarchique des échantillons sur la base d'une matrice de distance de Horn, qui permet de regrouper de manière non supervisée les échantillons en fonction de la similarité en termes de structure et abondance des communautés microbiennes.
- Des corrélations de Spearman ont finalement été calculées pour évaluer la force de l'association linéaire entre l'abondance relative des taxons identifiés et l'évolution de la concentration des sucres primaires.

Les données obtenues suite à la campagne d'échantillonnage de l'été 2018 sont encore en cours d'exploitation et devraient rapidement faire l'objet d'une publication scientifique. Ainsi, cette section

fournit « seulement » une bonne vision des grandes tendances de la dynamique des sucres primaires en lien avec les caractéristiques microbiologiques dans les PM₁₀.

3 Comparaison des résultats des campagnes d'été 2017 et 2018 sur le site de l'OPE-ANDRA

3.1 Concentrations des sucres primaires détectés

Durant les étés 2017 et 2018, deux campagnes ont été menées sur le site rural de l'OPE-ANDRA pour le suivi du lien entre l'évolution temporelle de la concentration des sucres primaires et les caractéristiques microbiologiques des PM₁₀ collectées. Le Tableau 5 illustre les concentrations en sucres primaires détectés et quantifiés lors de deux campagnes d'échantillonnage. On remarque que la campagne de l'été 2018 présente globalement des concentrations assez faibles par rapport à 2017. Cela pourrait être lié à la fréquence d'échantillonnage plus faible pour cette année 2018. Pour rappel, les PM₁₀ ont été collectées à raison de 1 jour sur 6 lors de la campagne 2018 (qui correspond à la fréquence d'échantillonnage habituellement utilisée pour ce site) alors qu'un programme spécifique intense de collecte quotidienne avait été mis en place en 2017. Ainsi, les épisodes les plus intenses n'ont pas nécessairement été collectés.

L'arabitol, le mannitol, le glucose et le trehalose constituent les espèces chimiques majoritaires (concentration moyenne > 50 ng m⁻³) parmi les sucres primaires détectés, indépendamment de l'année de la campagne. Les autres sucres primaires détectés dans les PM₁₀ à l'OPE-ANDRA sont minoritaires (concentration moyenne < 10 ng m⁻³) à l'exception de l'erythritol, qui montre une concentration moyenne de 105.8 ng m⁻³ lors de l'été 2018 (Tableau 5). Une distribution similaire entre espèces chimiques mais d'intensité variable a également été observée pour d'autres sites d'étude en milieu urbain (Tableau 6).

Tableau 5 : Comparaison des données de concentrations en sucres primaires particulières dans les PM₁₀ prélevées lors des campagnes d'été de 2017 et 2018. Les concentrations sont exprimées en ng m⁻³. LQ désigne la limite de quantification de l'HPLC/PAD.

Compounds	Min—Max	Mean	Standard deviation
2017 (69)			
Arabitol	5.7—569.7	67.4	83.1
Mannitol	8.3—515.0	68.0	75.3
Trehalose	1.3—302.1	52.7	52.0
Glucose	9.6—215.4	52.7	52.0
Sorbitol	2.2—38.1	46.8	37.1
Inositol	0.1—11.9	2.2	2.0
Erythritol	0.7—54.7	7.0	8.8
Xylitol	0.1—14.4	2.3	2.9
2018 (16)			
Arabitol	3.6—108.6	35.1	26.0
Mannitol	2.7—88.0	35.6	25.6
Trehalose	1.2—53.4	15.8	15.3
Glucose	7.1—144.3	39.5	37.8
Sorbitol	< LQ	< LQ	< LQ
Inositol	< LQ	< LQ	< LQ
Erythritol	0.0—366.8	105.8	118.8
Xylitol	< LQ	< LQ	< LQ

Tableau 6 : Comparaison des données de concentrations en sucres primaires particulières dans les PM₁₀ prélevées sur les sites de Grenoble Les Frênes et Marseille 5 avenue lors de la campagne d'été de 2018. Les concentrations sont exprimées en ng m⁻³. LQ désigne la limite de quantification de l' HPLC/PAD.

Compounds	Min—Max	Mean	Standard deviation
Grenoble Les Frênes (24)			
Arabitol	0.2—160.1	39.4	32.9
Mannitol	5.4—90.4	37.8	18.9
Trehalose	0.1—56.4	12.3	14.7
Glucose	9.4—42.5	19.7	20.8
Sorbitol	2.18—42.5	19.85	7.2
Inositol	0.1—9.1	1.9	1.8
Erythritol	0.7—203.3	72.8	38.4
Xylitol	< LQ	< LQ	< LQ
Marseille (20)			
Arabitol	18.7—338.0	150.3	83.5
Mannitol	52.3—254.9	162.1	68.1
Trehalose	0.1—173.8	15.82	15.26
Glucose	50.8—677.3	155.7	132.0
Sorbitol	37.5—107.3	71.2	22.3
Inositol	0.1—21.3	13.7	4.7
Erythritol	0.7—240.8	36.8	57.1
Xylitol	< LQ	< LQ	< LQ

3.2 Comparaison de la richesse et la diversité en MOTUs (Molecular Operational Taxonomic Unit) des communautés microbiennes entre les deux campagnes

Afin d'évaluer si les communautés microbiennes atmosphériques ont été échantillonnées de manière appropriée, des courbes de raréfaction ont été tracées pour chaque échantillon. La courbe de raréfaction représente le nombre cumulé d'espèces microbiennes nouvelles trouvées en fonction de la profondeur du séquençage (nombre de lectures ou encore appelées reads) pour chaque échantillon. Si l'effort d'échantillonnage (i.e., la taille ou le nombre d'échantillon) est suffisant pour capturer la diversité de l'ensemble des espèces microbiennes présentes dans un échantillon, la courbe de raréfaction atteint alors une asymptote. Comme illustré dans la Figure 51, les courbes de raréfaction atteignent généralement un plateau, ce qui traduit un effort d'échantillonnage satisfaisant et, par ricochet, une richesse spécifique représentative du site d'étude.

Toutefois, la Figure 51 montre également que la profondeur de séquençage est variable entre les échantillons. Ainsi, afin de pouvoir intercomparer les résultats, une méthode souvent employée pour normaliser la profondeur de séquençage entre les échantillons sur toute la table de comptage consiste à raréfier les données pour une taille minimale d'échantillon choisie (ici 8072 et 2468 pour les bibliothèques de gènes fongiques et bactériens, respectivement). Elle consiste à réaliser un échantillonnage aléatoire sans remise de reads pour une taille d'échantillonnage donnée pour chaque élément de la table de comptage. Ici, la raréfaction a été effectuée à l'aide de la fonction *rrarefy* de la bibliothèque R *vegan* (Oksanen et al., 2019). Les jeux de données ainsi normalisés ont été utilisés pour la suite de l'étude.

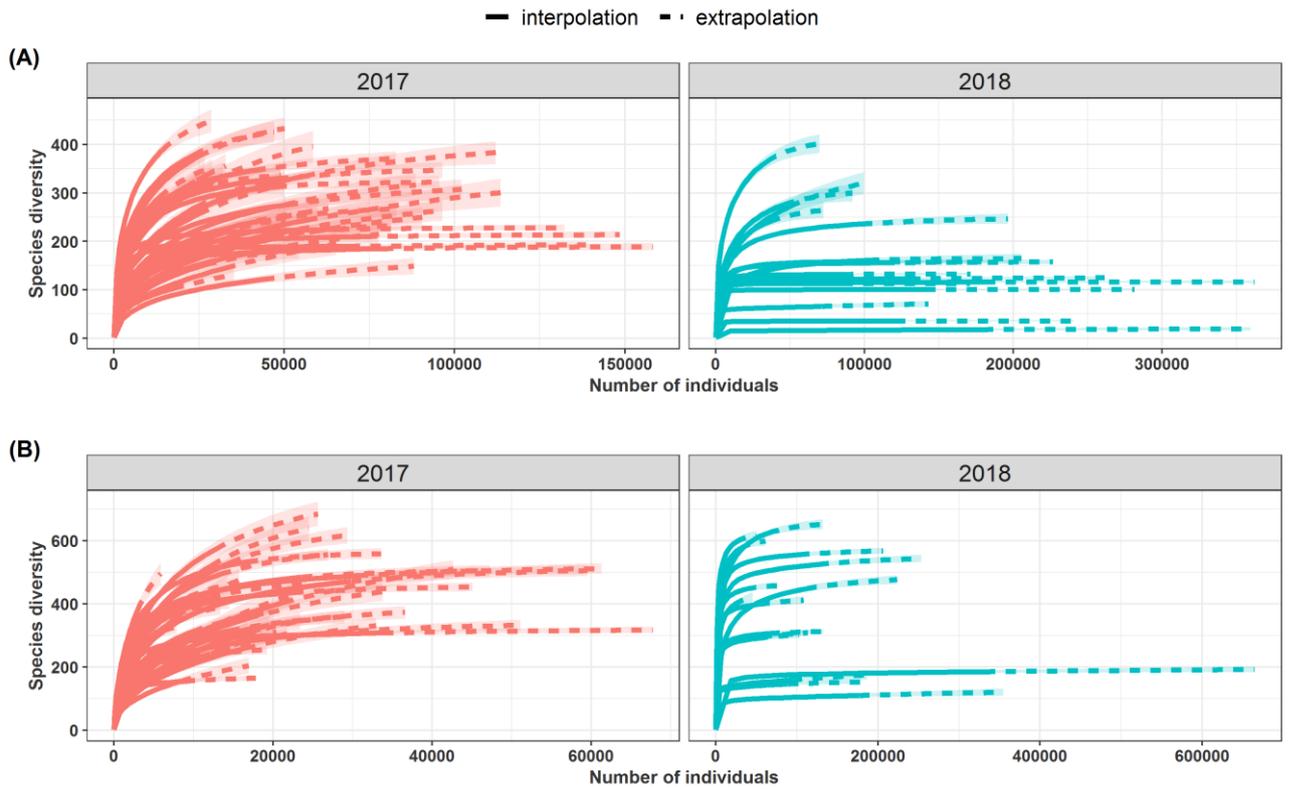


Figure 51 : Courbes de raréfaction montrant l'accumulation des espèces en fonction de la profondeur de séquençage (trait plein) et courbes d'extrapolation montrant l'accumulation d'espèces (trait pointillé). (A) et (B) correspondent aux communautés fongiques et bactériennes, respectivement.

Des estimateurs de richesse (Chao1) et diversité (Shannon et Simpson) ont été calculés afin mesurer le niveau d'organisation des communautés microbiennes présentes dans les échantillons de PM collectées lors des deux campagnes d'échantillonnage. L'estimation des indices de richesse et de diversité obtenue pour chaque campagne d'échantillonnage est présentée dans le Figure 52. L'indice de Chao1 indique une richesse globalement plus élevée en 2017. A contrario, les indices de diversité de Shannon et de Simpson sont globalement plus élevés en 2018, indiquant une plus forte diversité microbienne dans les PM₁₀ prélevées lors de l'été 2018.

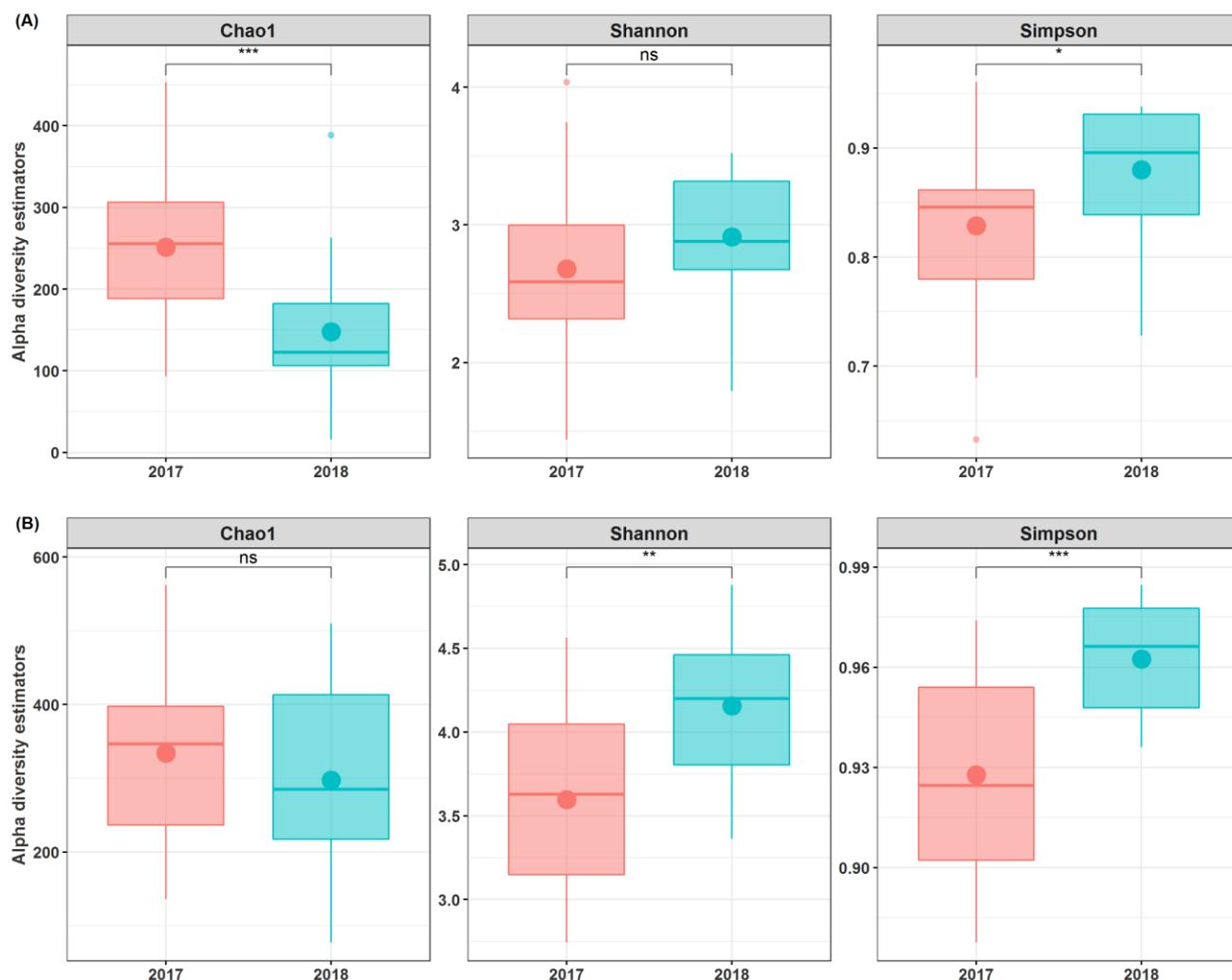


Figure 52 : Estimation de l'alpha-diversité globale au sein des échantillons collectés lors des deux campagnes d'échantillonnage de PM de 2017 et 2018 à l'OPE-ANDRA. (A) et (B) correspondent respectivement aux communautés fongiques et bactériennes. Les points à l'intérieur des boîtes à moustaches correspondent aux valeurs moyennes.

3.3 Biodiversité microbienne dans les PM₁₀ collectées pendant l'été 2018

3.3.1 Biodiversité fongique

Lors de la campagne de prélèvements d'aérosols à l'OPE-ANDRA pendant l'été 2018, nous avons observé 3 phyla fongiques. Parmi eux, les Ascomycota et Basidiomycota sont apparus comme prédominants dans les tous les échantillons collectés. Comme illustré dans la Figure 53, les Ascomycota représentent en moyenne 75.2 ± 1.2 % des séquences ITS1 et les Basidiomycota 24.7 ± 1.6 %. Les séquences restantes ont été assignées aux Mucoromycota ($< 0,001\%$) et à des séquences non classées ($< 0,001\%$). Au total vingt-quatre classes ont été identifiées, parmi lesquels 6 sont apparus comme majoritaires représentant entre 2.1 ± 0.3 et 55.2 ± 1.2 % des séquences fongiques. Environ 527 genres ont été identifiés dans tous les échantillons, parmi lesquels 9 ont été retrouvés en proportions importantes (≥ 2 %). Ces résultats sont en accord avec les observations dans la Figure 52, confirmant ainsi la plus forte diversité fongique dans les PM₁₀ prélevées lors de l'été 2018. Pour rappel, 327 genres distincts avaient détectés lors de l'été 2017. Pendant la campagne d'été 2018, les genres *Cladosporium* (20.0 ± 0.7 %), *Epicoccum* (14.5 ± 0.6 %), *Alternaria* (9.0 ± 0.4 %), *Aspergillus* (4.0 ± 0.7 %), *Itersonilia* (3.6

± 0.6 %), *Ascochyta* (3.6 ± 0.3 %), *Pyrenophora* (2.7 ± 0.4 %), *Microdochium* (2.4 ± 0.2 %) et *Malassezia* (2.1 ± 0.3 %) sont apparus comme prédominants dans tous les échantillons. Enfin 10.0 ± 0.2 % des séquences fongiques n'ont pas pu être assignées taxonomiquement au niveau du genre. Une distribution similaire entre les taxons mais d'abondance variable a également été observée lors de l'été 2017.

Les genres dominants tels que *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Alternaria*, *Aspergillus* retrouvés dans les PM_{10} sont connus pour leur prédominance dans le phyllosphère. En effet, ils sont connus pour leur capacité à agir comme des saprophytes ou des pathogènes opportunistes pour les plantes (Andersen et al., 2009; Whipps et al., 2008).

3.3.2 Biodiversité bactérienne

Comme précédemment, la même analyse a été réalisée pour la librairie bactérienne. Vingt-trois phyla bactériens ont été observés dans tous les échantillons collectés. Parmi eux, 5 sont apparus comme majoritaires ($\geq 1\%$). Comme illustré dans la Figure 53, les Proteobacteria (38.7 ± 0.6 %), les Firmicutes (18.3 ± 0.1 %), les Actinobacteria (17.1 ± 0.3 %), les Bacteroidetes (15.1 ± 0.4 %) et les Cyanobacteria (3.9 ± 0.2 %) ont été retrouvés en proportions importantes dans tous les échantillons. Autour de 3% des séquences bactériennes n'ont pas pu être assignées taxonomiquement au niveau du phylum. Environ 649 genres ont été identifiés, parmi lesquels 12 sont apparus comme majoritaires dans tous les échantillons. Encore une fois, ces résultats sont en accord avec les observations dans la Figure 52, confirmant à nouveau la plus forte diversité bactérienne dans les PM_{10} prélevées lors de l'été 2018. Pour rappel, 392 genres distincts avaient été détectés lors de l'été 2017. Les genres *Sphingomonas* (10.3 ± 0.4 %), *Curtobacterium* (4.6 ± 0.2 %), *Massilia* (4.6 ± 0.2 %), *Halospirulina* (3.7 ± 0.2 %), *Bacillus* (3.7 ± 0.2 %), *Clostridium* (3.1 ± 0.2 %), *Pedobacter* (2.9 ± 0.1 %), *Hymenobacter* (2.5 ± 0.0 %), *Pseudomonas* (2.7 ± 0.2 %), *Staphylococcus* (2.4 ± 0.2 %) et *Beijerinckia* (2.0 ± 0.2 %). Au niveau genre, 24.7 ± 0.3 % des séquences bactériennes n'ont pas pu être assignées taxonomiquement.

Une distribution similaire entre les taxons bactériens mais d'abondance variable a également été observée lors de l'été 2017 (ceci est décrit dans la première de ce cinquième chapitre).

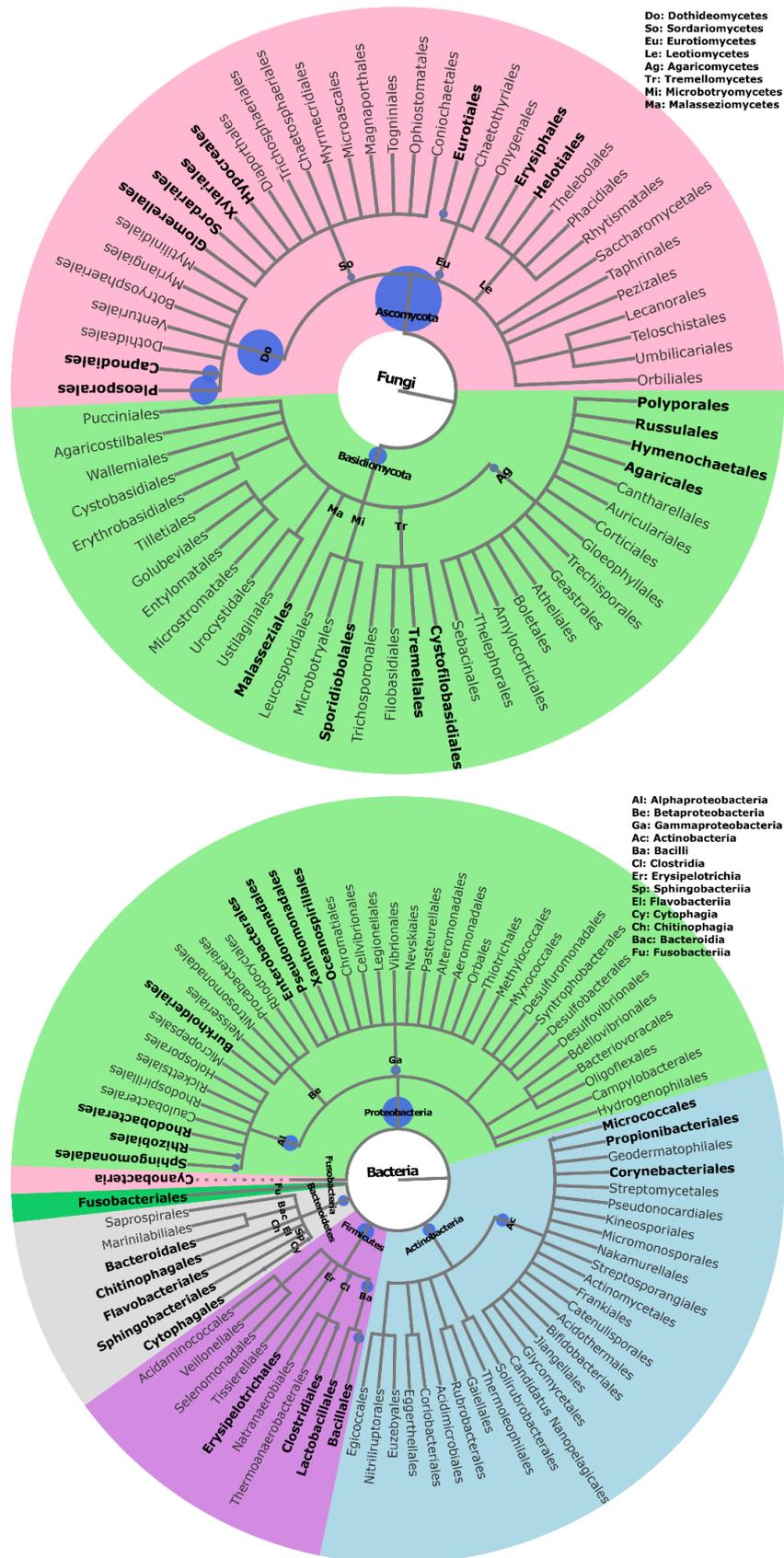


Figure 53 : Arbres phylogénétique montrant la diversité fongique et bactérienne dans les PM₁₀ collectées lors de l'été 2018. La taille des noeuds (en bleu) indiquent l'abondance relative des taxons. Seuls les taxons retrouvés en forte proportions (≥ 1%) sont indiqués en gras.

3.4 Comparaison statistique de la biodiversité entre les deux campagnes

Comparer la composition taxonomique des communautés microbiennes PM₁₀ peut apporter des éléments de réponse quant à la variabilité interannuelle de la structure des communautés microbiennes présentes dans les aérosols à l'OPE-ANDRA. Pour cela des analyses NMDS, qui apportent des informations sur la proximité (i.e., similarité ou dissimilarité) des échantillons en termes de leur composition taxonomique (Figure 54), ont été appliquées. L'ordination NMDS regroupe les échantillons par groupe de similarité sur la base de l'indice de diversité de Bray-Curtis (Oksanen et al., 2019). Ce dernier mesure le pourcentage de dissimilarité entre les échantillons en se basant sur la matrice d'abondance des espèces microbiennes. Les résultats obtenus permettent de mettre en évidence deux tendances marquantes selon l'année d'échantillonnage (Figure 54) :

- La constatation fondamentale des analyses NMDS est que la structure des communautés microbiennes dans les échantillons de PM₁₀ est fortement similaire entre les deux années d'échantillonnage. Ce résultat montre donc une stabilité de la diversité des communautés fongiques et bactériennes dans les PM₁₀ à l'OPE-ANDRA, indépendamment de l'année.
- L'autre constatation est qu'il existe une dispersion plus importante de la bêta-diversité entre les échantillons collectés lors de l'été 2018 par rapport à ceux de 2017. Cette observation est tout à fait logique et attendue compte tenu de la fréquence plus faible des prélèvements journaliers de PM₁₀ pour l'été 2018.

Ces observations sont confortées par la classification hiérarchique non supervisée des échantillons (Figure 55) qui démontrent que la structure des communautés microbiennes dans les PM₁₀ ne diffère pas en été d'une année sur l'autre à l'OPE-ANDRA. Ces résultats sont cohérents avec la littérature et suggèrent, comme attendus, que les pratiques agricoles sont un « driver » important des communautés microbiennes des aérosols (Ottesen et al., 2009; Rastogi et al., 2013). En effet, bien que les cultures soient soumises à une rotation triennale, l'assolement global et les cultures ne varient pas significativement d'une année à l'autre à l'échelle de la zone d'observation de l'ANDRA.

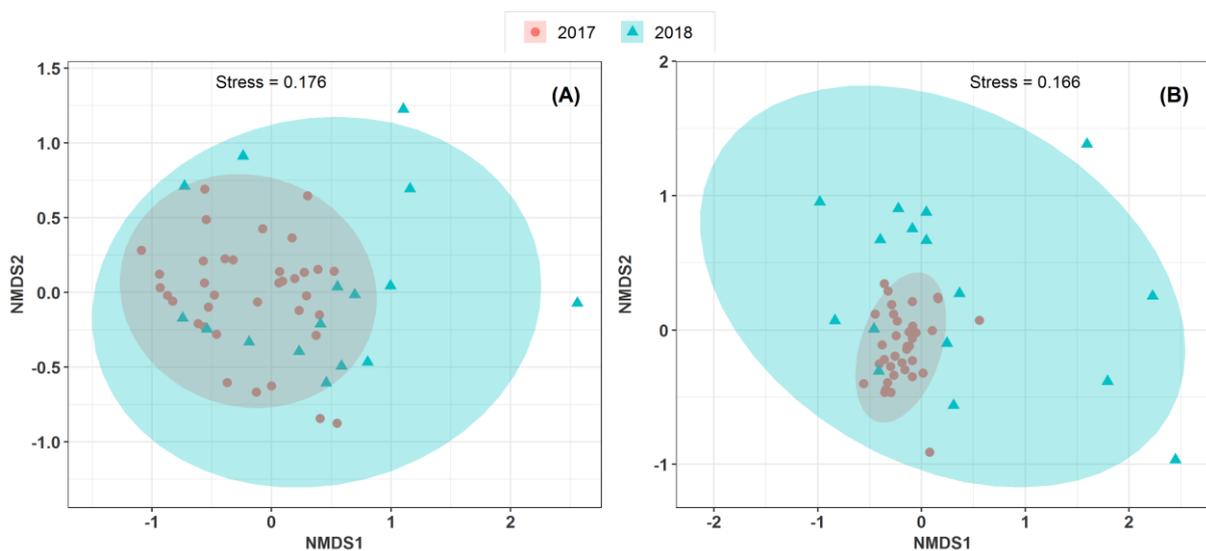


Figure 54 : Positionnement multidimensionnel non métrique (NMDS) de la composition taxonomique des PM₁₀ selon l'année de la campagne d'échantillonnage. (A) et (B) correspondent aux communautés fongiques et bactériennes, respectivement. Avec une valeur de stress < 0.2, la représentation donne une image satisfaisante de la composition taxonomique des différents échantillons. Les ellipses représentent les intervalles de confiance à 95% autour du centroïde des partitions (« clusters »).

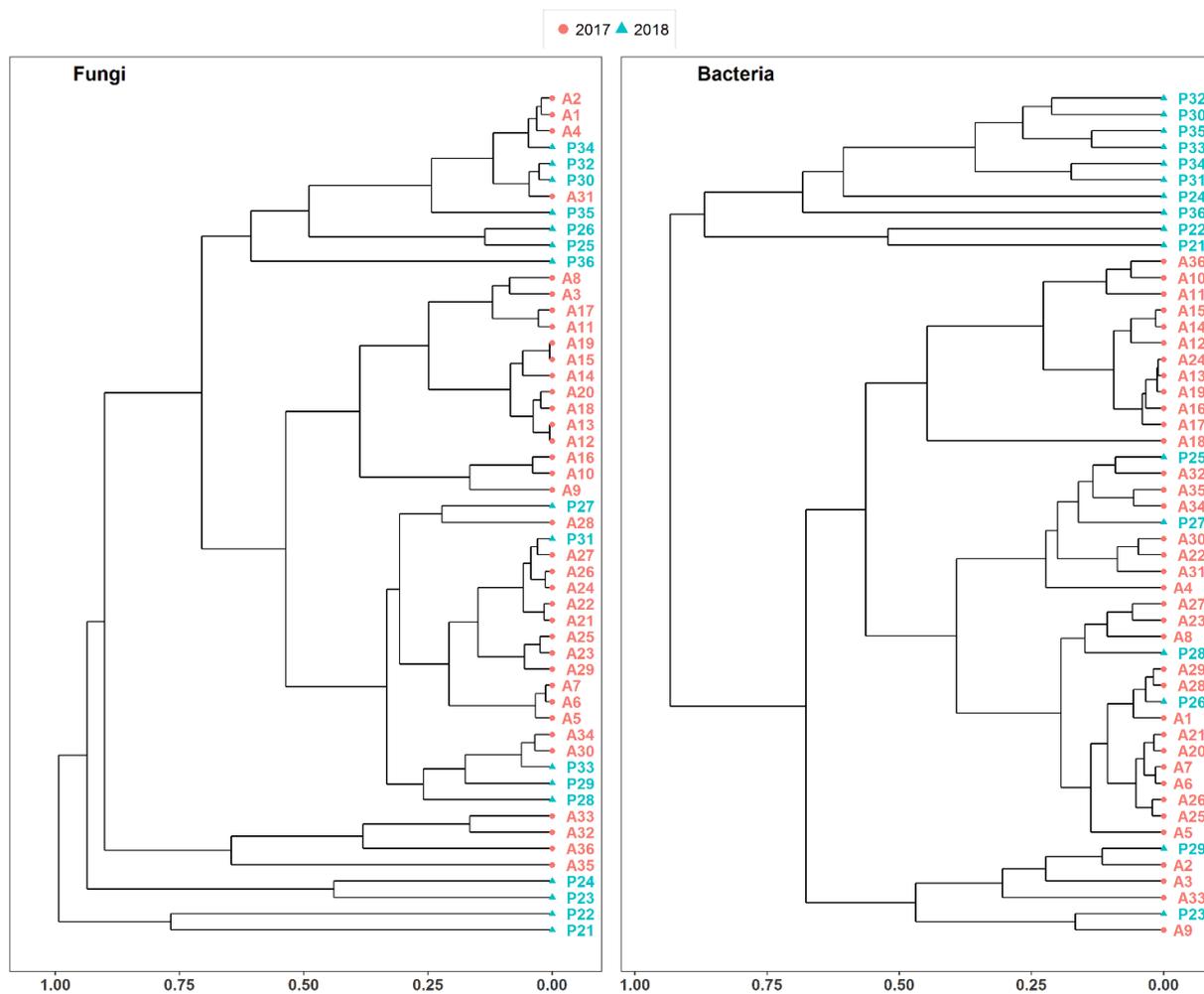


Figure 55 : Dendrogrammes issus de la classification ascendante hiérarchique des échantillons de PM_{10} collectées lors des campagnes d'été 2017 et 2018. L'algorithme de classification a été appliqué une la matrice de dissimilarité de Horn, obtenue à partir du tableau d'abondance des espèces fongiques et bactériennes.

3.5 Lien entre l'abondance des communautés microbiennes présentes dans l'atmosphère et la concentration des sucres primaires dans les PM₁₀ pendant l'été 2018

La Figure 56 illustre les résultats de l'ordination NMDS réalisée à partir d'une matrice de dissimilitude de Bray-Curtis de table d'abondances des espèces fongiques et bactériennes. L'ordination NMDS de la composition taxonomique des communautés microbiennes permet d'observer un regroupement des échantillons de PM₁₀ en fonction leur niveau de concentration en sucres primaires.

Au niveau de la classe fongique, les échantillons de PM₁₀ correspondant aux plus fortes concentrations de sucres primaires particulières sont distinctement séparés de ceux correspondant aux niveaux de fond atmosphérique en sucres primaires. Ce regroupement est principalement expliqué par l'axe NMDS2, qui résulte de la prédominance de seulement quelques classes fongiques dans les échantillons de PM₁₀, dont les Dothideomycetes, les Tremellomycetes, les Microbotryomycetes, les Exobasidiomycetes, les Taphrinomycètes, les sordariomycètes, etc. La projection des séries temporelles de la concentration des sucres primaires sur les axes NMDS indique que ces communautés fongiques sont associées (corrélation non significative au seuil de 5%) aux variations de la concentration des sucres primaires dans les PM₁₀ à l'OPE-ANDRA. Des coefficients de corrélation de Spearman ont été calculés afin d'évaluer la force de la relation linéaire entre les concentrations de sucres primaires dans les PM₁₀ atmosphérique et ces classes fongiques. Comme illustré dans la Figure 57 A, seules les classes fongiques telles que les Tremellomycetes, les Microbotryomycetes, les Exobasidiomycetes sont significativement corrélées positivement avec les sucres primaires mesurés à l'OPE-ANDRA. Ces classes fongiques sont globalement les mêmes que celles déjà retrouvées lors de la campagne d'été 2017.

Des tendances similaires ont été également observées pour les phyla bactériens (Figure 57 B), même si la séparation des groupes d'échantillons est moins nette. Cette observation est très certainement liée au pas de temps d'échantillonnage relativement long appliqué lors de la campagne d'été 2018. La dispersion atmosphérique est un paramètre clé de la bêta-diversité (variation de la composition des communautés microbiennes entre les échantillons) (Vannette and Fukami, 2017). Les bactéries étant généralement plus petites que les spores fongiques, elles sont plus assujetties à la dispersion atmosphérique (Schmidt et al., 2014; Sun et al., 2017).

Des coefficients de corrélation de Spearman ont été calculés afin d'évaluer la force de la relation linéaire entre l'abondance des phyla bactériens et les sucres primaires dans les PM₁₀ caractérisées à l'OPE-ANDRA. Parmi les phyla dominants (abondance > 1%), seuls les Proteobacteria semblent positivement corrélées (non significatif au seuil de 5%) aux évolutions temporelles de la concentration des sucres primaires particulières. Ces tendances sont également similaires à celles observées avec les résultats de la campagne d'échantillonnage de l'été 2017.

L'ensemble de ces analyses comparatives permet de mettre clairement en évidence la robustesse du lien entre les taxons spécifiques identifiés et l'évolution temporelle des concentrations en sucres primaires dans les PM₁₀ et confirme également les résultats obtenus lors de la campagne d'été 2017 sur ce même site d'étude.

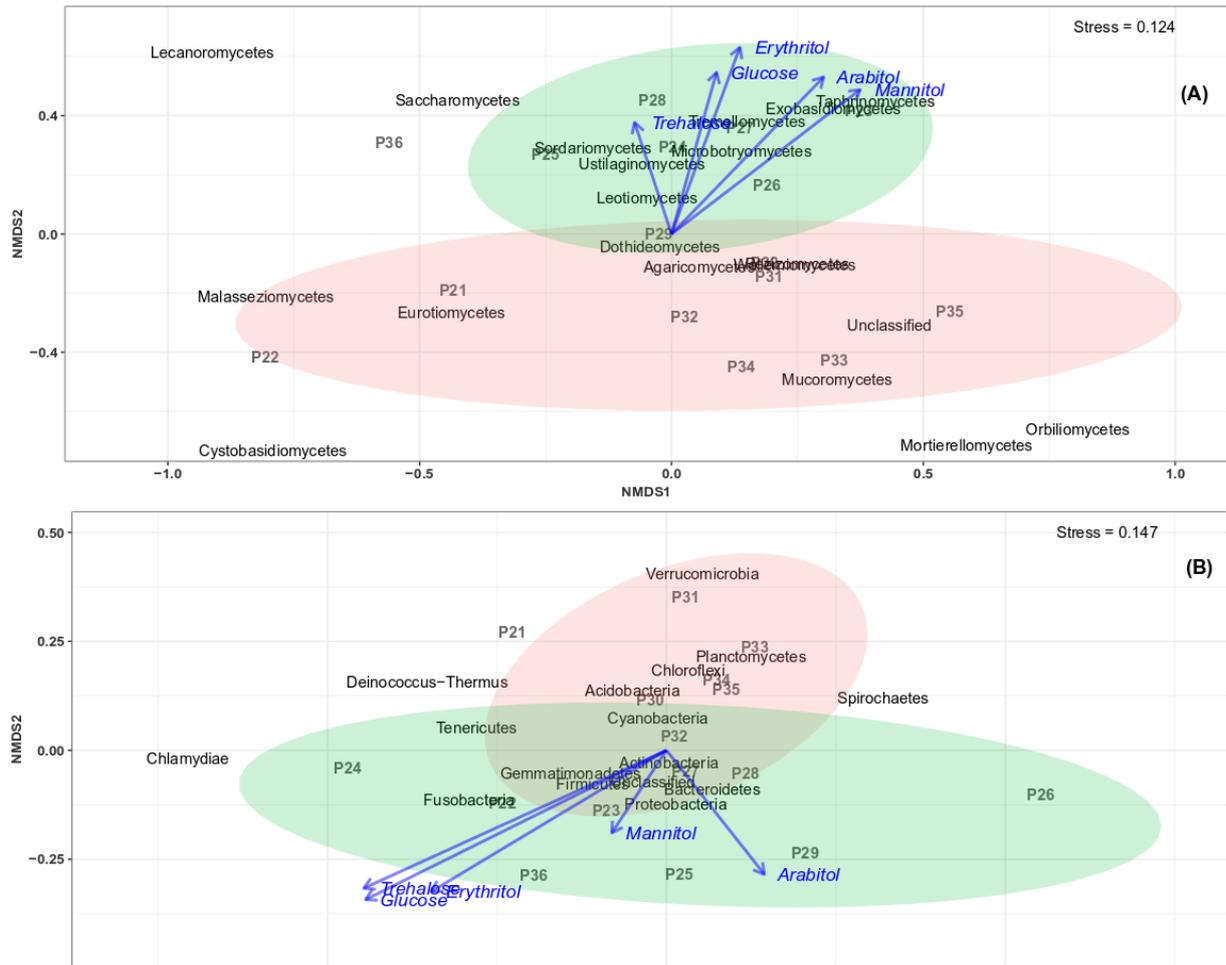


Figure 56 : Positionnement multidimensionnel non métrique (NMDS) des échantillons. (A) et (B) correspondent respectivement aux communautés fongiques et bactériennes. Avec une valeur de stress < 0.2, la représentation donne une image satisfaisante de la composition taxonomique des différents échantillons. Les ellipses représentent les intervalles de confiance à 95% autour de la centroïde des partitions (« clusters »). Les dynamiques temporelles de la concentration atmosphérique des sucres primaires sont gouvernées par la structure et l'abondance des communautés microbiennes atmosphériques. Le manque d'association statistiquement significative au seuil de 5% est très certainement lié à un nombre limité d'échantillons analysés (n= 16).

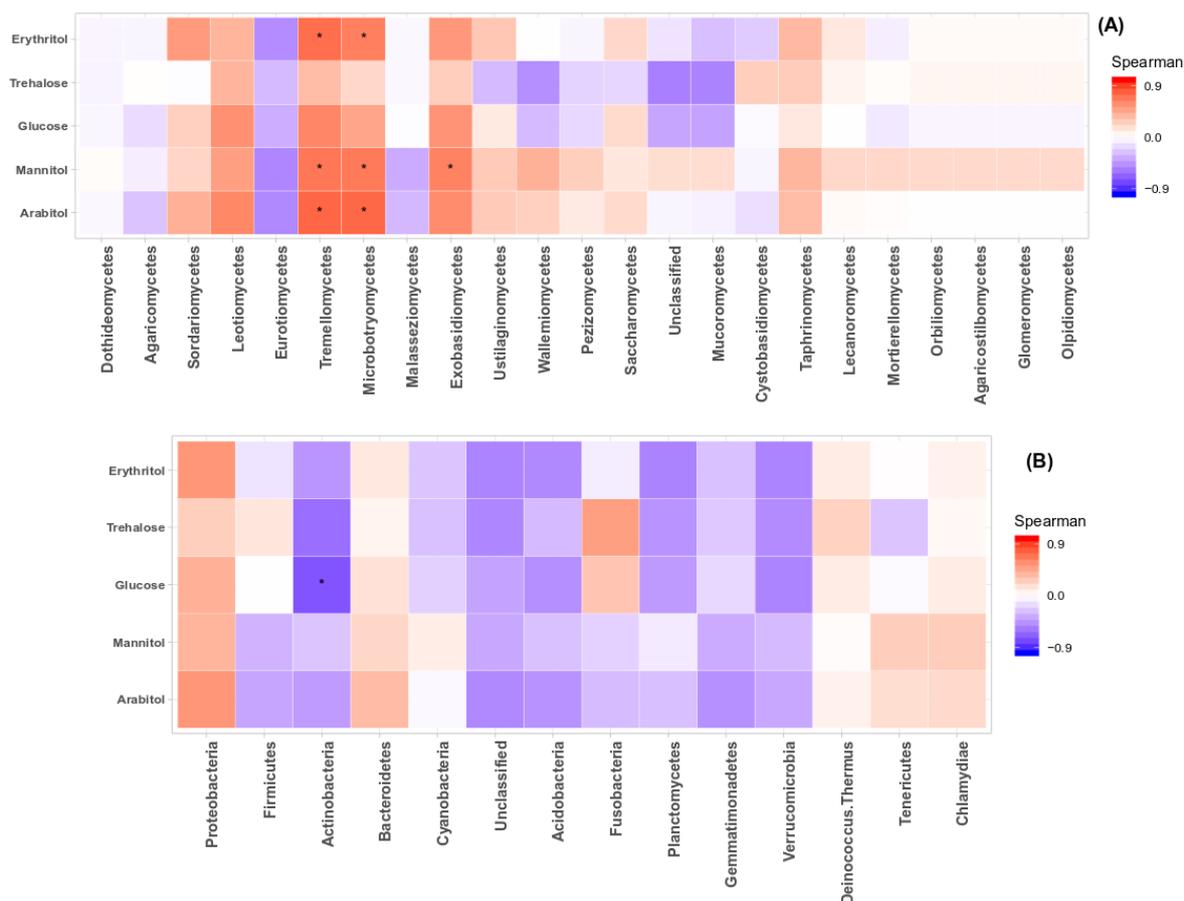


Figure 57 : Corrélation de Spearman entre les concentrations des sucres primaires et l'abondance des communautés microbiennes les PM₁₀ atmosphériques. (A) et (B) désignent respectivement les classes fongiques et phyla bactériens dominants (> 1%).

4 Comparaison de la composition des communautés microbiennes des aérosols sur 3 sites distincts

Comparer l'abondance et la composition taxonomique des communautés microbiennes dans les PM₁₀ prélevées sur trois sites d'étude répartis dans différentes régions climatiques de la France est une opportunité unique pour apporter une meilleure compréhension de la dynamique spatiale des concentrations en sucres primaires particulaires. Dans un premier temps, et par rapport aux résultats présentés dans le Chapitre 4, il est nécessaire d'évaluer le niveau de dissimilarité de la composition des communautés microbiennes entre ces trois sites géographiquement distincts. Dans un second temps, nous pourrions également évaluer les effets d'échelle et notamment le rôle des processus locaux, régionaux voire nationaux dans l'origine des microorganismes associés sucres primaires particulaires.

Les résultats de l'ordination NMDS réalisée sur la matrice d'abondances des espèces microbiennes dans les PM₁₀ sur les 3 sites d'études permettent clairement de distinguer les communautés microbiennes en trois groupes correspondant aux trois sites étudiés (Figure 58). Les communautés microbiennes des échantillons de PM₁₀ présentent une structure très similaire entre échantillons sur un site donné et des structures distinctes entre sites. Ces observations sont confortées par une analyse de

similarité qui démontre que la structure des communautés fongiques (ANOSIM, $R= 0.28$, $p < 0.001$) et bactériennes (ANOSIM, $R= 0.34$, $p < 0.001$) diffèrent significativement entre les 3 sites étudiés.

La structure des communautés microbiennes dans les PM_{10} est donc bien distincte sur les trois sites étudiés, indiquant que les variations temporelles des concentrations en sucres primaires sont potentiellement régies par des processus d'émission agissant à une échelle locale ou régionale et sous l'influence de facteurs climatiques locaux ou régionaux tels que la température, l'humidité relative, la densité et le type de végétation, etc.

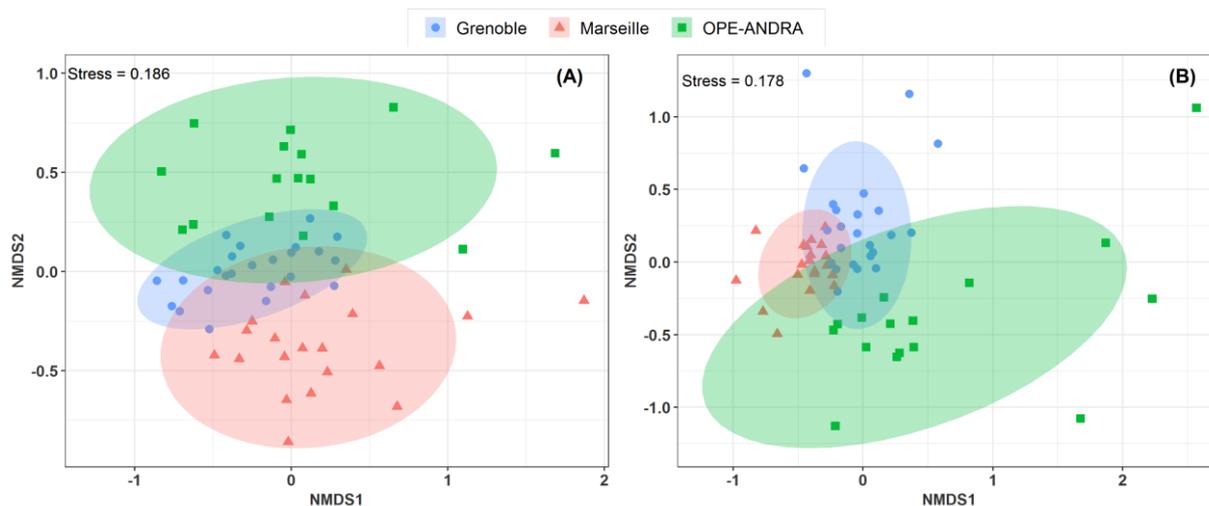


Figure 58: Similarité de la composition des communautés microbiennes (MOTUs) dans les échantillons de PM_{10} collectés sur les trois sites. (A) et (B) désignent respectivement les communautés fongiques et bactériennes. Avec une valeur de stress $< 0,2$, la représentation donne une image satisfaisante de la composition taxonomique des différents échantillons. Les ellipses représentent les intervalles de confiance à 95% autour du centroïde des partitions.

Afin d'avancer dans la compréhension des sources et des processus dominants d'émissions des communautés microorganismes atmosphériques qui contrôlent les variations des concentrations en sucres primaires particulaires sur des sites non influencés par les activités agricoles, nous avons comparé la structure des communautés microbiennes dans les PM_{10} et dans les feuilles des plantes dominantes autour du préleveur d'aérosol sur les sites en contexte urbain de Grenoble et Marseille.

Les analyses NMDS réalisées sur la matrice d'abondance des espèces microbiennes dans les échantillons de PM_{10} et de feuilles prélevés sur le site de Grenoble permettent de distinguer les communautés microbiennes en deux groupes selon la nature de l'échantillon, PM ou plantes (Figure 59). La Figure 59 montre clairement une structuration différente des communautés microbiennes entre les échantillons de PM_{10} des plantes environnantes dominantes. Ces observations sont confortées par une analyse de similarité qui démontre que la structure des communautés fongiques ($R= 0.89$, $p < 0.001$) et bactériennes (ANOSIM, $R= 0.97$, $p < 0.001$) diffèrent significativement entre les deux types d'échantillons. De même, la classification hiérarchique permet de différencier deux groupes d'échantillons qui sont aussi clairement regroupés selon leur nature (Figure 60).

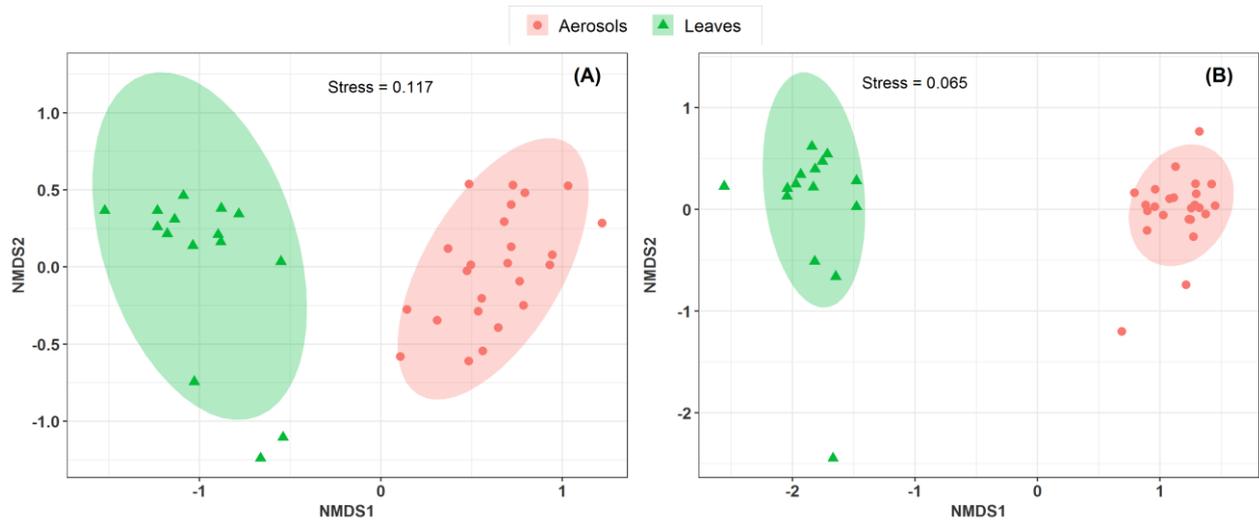


Figure 59 : Analyse NMDS réalisée à partir de la matrice de distance de Bray-Curtis basée sur la table d'abondance des espèces microbiennes dans les PM_{10} prélevées sur le site de Grenoble Les Frênes et dans les feuilles des plantes dominantes autour du préleveur. (A) et (B) désignent respectivement les communautés fongiques et bactériennes. La valeur de stress < 0.12 indique une représentation correcte de l'information initialement contenue dans la table abondance des espèces microbiennes.

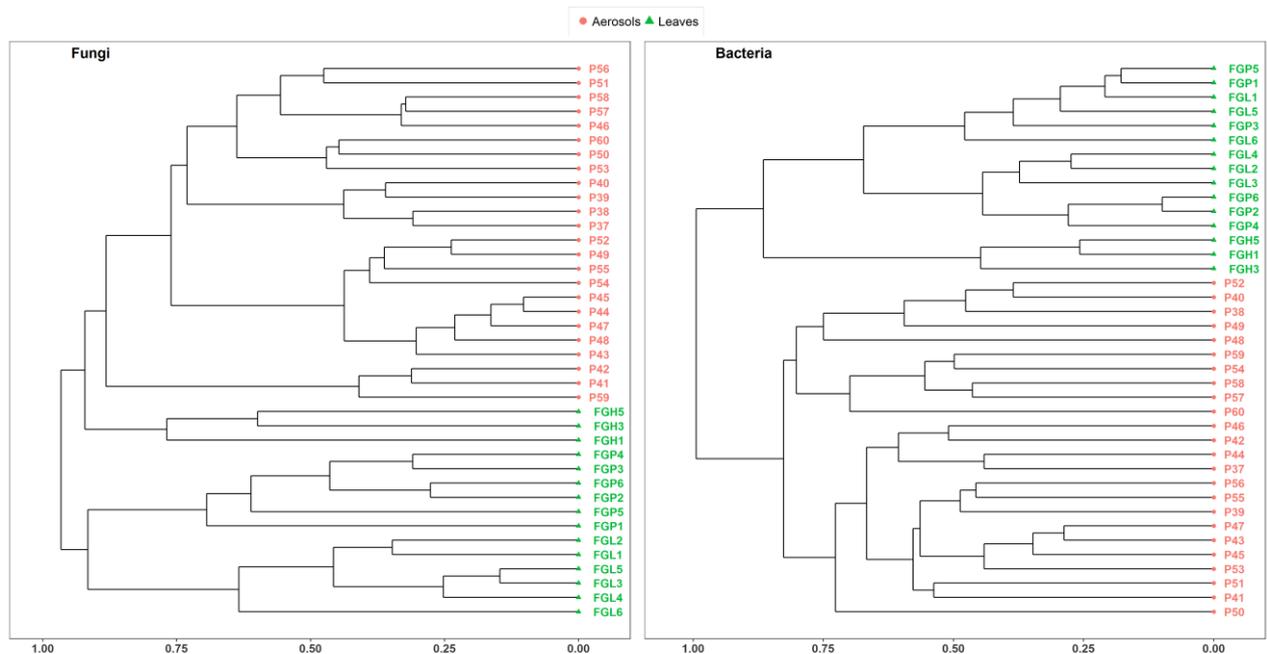


Figure 60 : Classification hiérarchique réalisée à partir de la matrice de distance de Horn basée sur les tables d'abondances d'espèces microbiennes dans les PM_{10} et les plantes dominantes autour du préleveur d'aérosol à Grenoble Les Frênes.

Les mêmes analyses multivariées ont été réalisées sur les données générées pour le site d'étude de Marseille. Comme précédemment, les ordinations NMDS permettent de différencier deux groupes d'échantillons regroupés en fonction de leur nature (Figure 61). A l'exception de deux échantillons, l'analyse de la bêta-diversité fongique montre que les échantillons de PM_{10} sont tous regroupés dans un même cluster (Figure 61 A). A l'exception d'un échantillon de feuille, la classification hiérarchique met clairement en évidence deux groupes correspondant aux types d'échantillons analysés. Ces observations sont confortées par l'analyse de similarité qui démontre que la structure des communautés fongiques

(ANOSIM, $R = 0.83$, $p < 0.001$) et bactériennes (ANOSIM, $R = 1$, $p < 0.001$) diffèrent significativement entre les deux types d'échantillons étudiés.

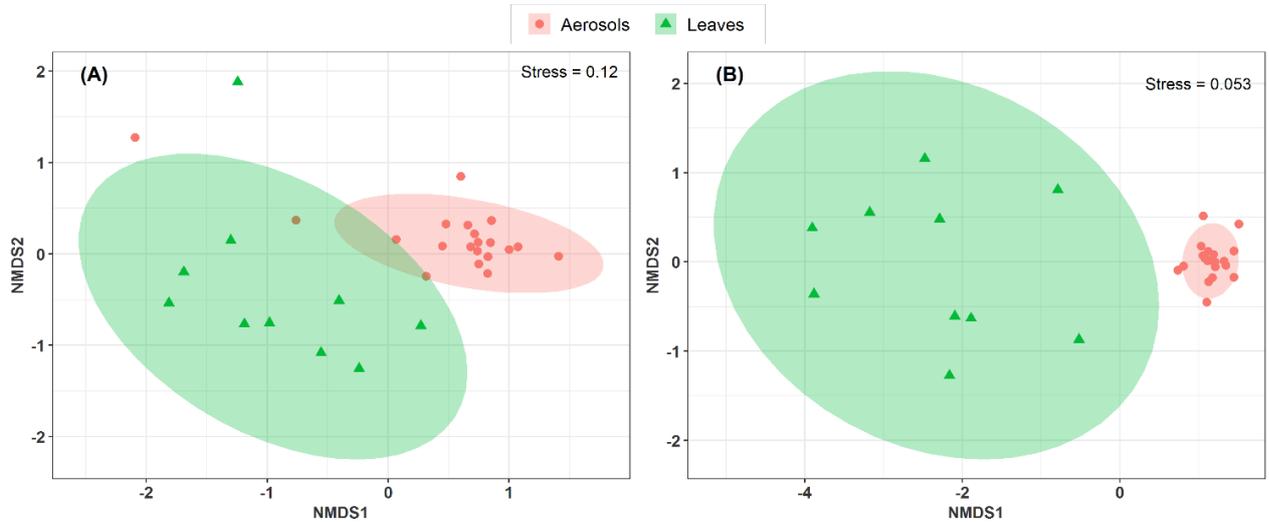


Figure 61 : Analyse NMDS réalisée à partir de la matrice de distance de Bray-Curtis basée sur la table d'abondance des espèces microbiennes dans les PM_{10} prélevées sur le site de Marseille 5 avenue et dans les feuilles des plantes dominantes autour du préleveur. (A) et (B) désignent respectivement les communautés fongiques et bactériennes. La valeur de stress ≤ 0.12 indique une représentation correcte de l'information initialement contenue dans la table d'abondance des espèces microbiennes.

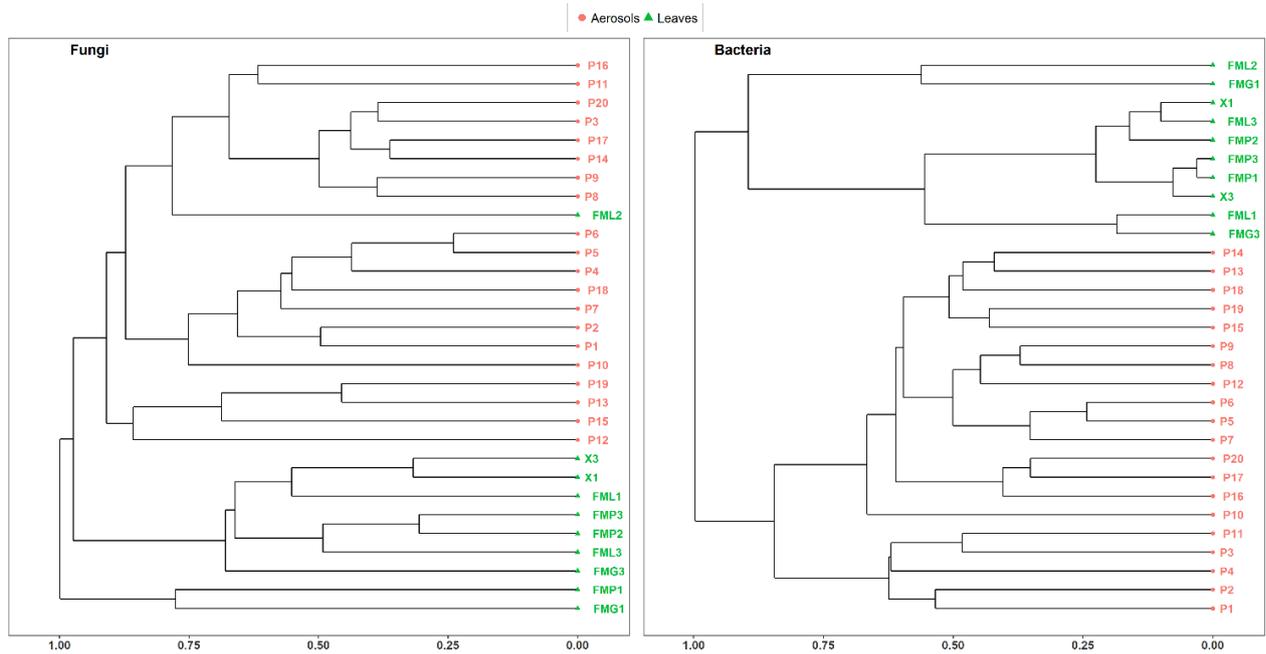


Figure 62 : Classification hiérarchique réalisée à partir de la matrice de distance de Horn basée sur les tables d'abondances d'espèces microbiennes dans les PM_{10} à et plantes dominantes environnantes autour du préleveur d'aérosol à Marseille.

En conclusion, l'ensemble des analyses comparatives a permis de mettre en évidence une structuration différente de la diversité fongique et bactérienne dans les PM₁₀ de chacun des 3 sites de prélèvement répartis dans différentes régions géographiques et climatiques de la France. Cela indique que les principales sources de sucres primaires particulaires sont dues à des émissions à dominance locale ou régionale, et sous l'influence de facteurs régionaux (ex., climat, biotope, occupation des sols, etc.). Nous avons également pu observer des diversités fongique et bactérienne distinctes entre les PM₁₀ et la végétation locale des deux sites de contexte urbain, non influencés directement par les activités agricoles. Ceci invalide l'hypothèse selon laquelle les sources des sucres primaires particulaires sont dues essentiellement à des émissions locales. Ces résultats démontrent une homogénéité des sources et des processus d'émission et d'abatement à l'échelle régionale, contrairement à ce qui avait été observé en contexte rural agricole.

4.1 Profils taxonomiques de communautés microbiennes associées aux évolutions temporelles des concentrations en sucres primaires dans les PM₁₀ des sites de Grenoble et Marseille :

Des coefficients de corrélation de Spearman ont été calculés afin de relier l'évolution temporelle de la structure des communautés microbiennes dans les PM₁₀ à celle des concentrations en sucres primaires particulaires des deux sites non influencés par des activités agricoles.

La Figure 63 illustre les relations linéaires entre l'évolution temporelle des concentrations en sucres primaires dans les PM₁₀ prélevées à Grenoble Les Frênes et l'abondance des taxons microbiens identifiés au niveau du genre. Pour les champignons (Figure 63 A), il existe une corrélation positive significative ($p < 0.05$) entre les concentrations des sucres primaires particulaires et les abondances des genres suivants : *Aspergillus*, *Peniophora*, *Hyphodermella*, *Phanerochaete*, *Leptoshaerulina* et *Pyrenophora*. Quant aux bactéries, les genres incluant *Massilia*, *Mallitangium*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, *Blastococcus*, *Deinococcus*, *Kocuria*, et *Leptotrichia* sont significativement positivement corrélés aux concentrations des sucres primaires particulaires (Figure 63 B).

De même, la Figure 64 illustre les relations linéaires entre l'évolution temporelle des concentrations en sucres primaires dans les PM₁₀ prélevées à Marseille et l'abondance des taxons au niveau du genre. Concernant les champignons (Figure 64 A), il existe corrélation positive significative ($p < 0.05$) entre les concentrations des sucres primaires particulaires et les abondances de *Cladosporium* et *Zymoseptoria*. Quant aux bactéries, les genres incluant *Sphingomonas*, *Curtobacterium*, *Pedobacter*, *Halospirulina*, *Methylbacterium*, *Streptomyces*, et *Gillisa* sont significativement associés aux sucres primaires particulaires.

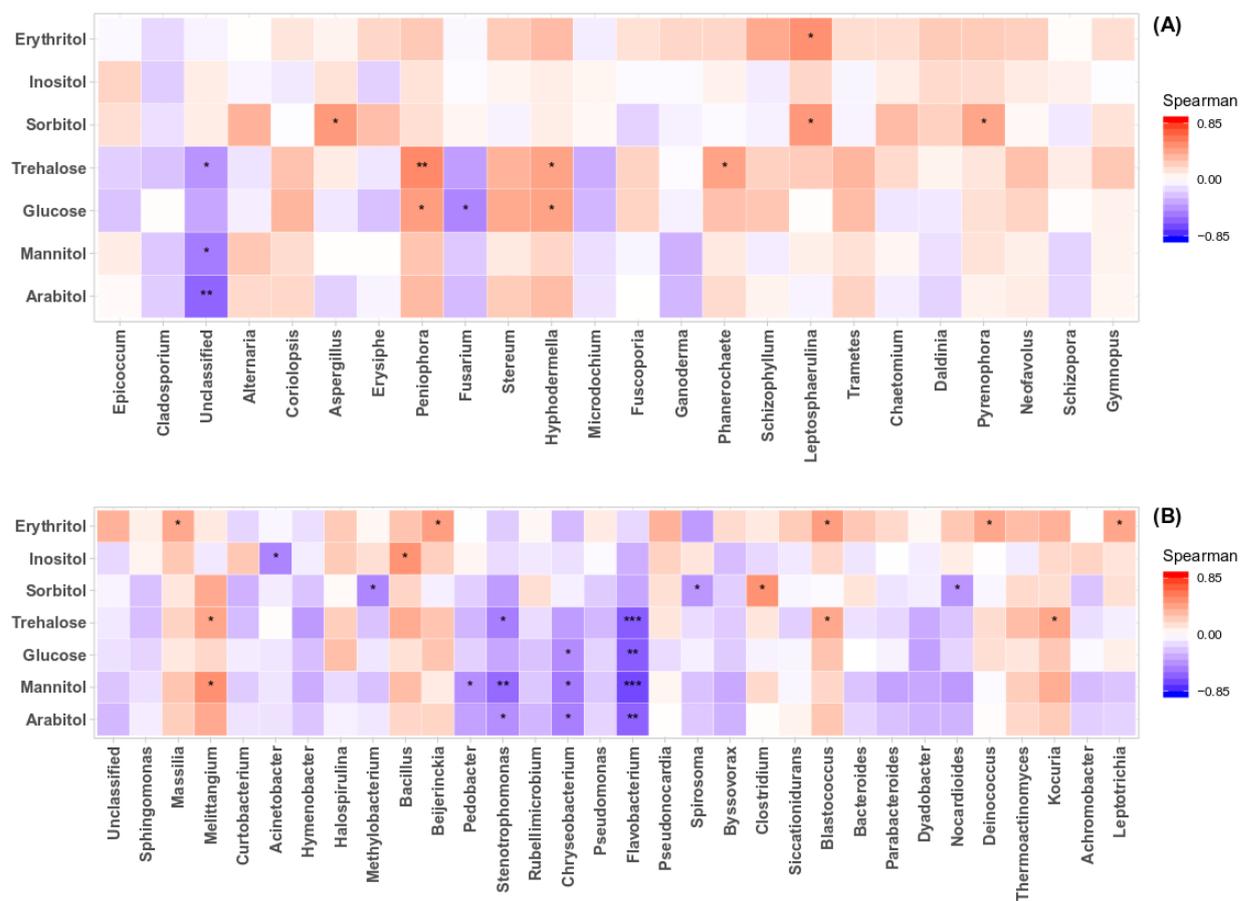


Figure 63 : Corrélation de Spearman entre les concentrations des sucres primaires et l'abondance spécifique de genres microbiens dans les aérosols prélevés à Grenoble Les Frênes. (A) et (B) désignent respectivement les genres fongiques et bactériens dominants (> 1%).

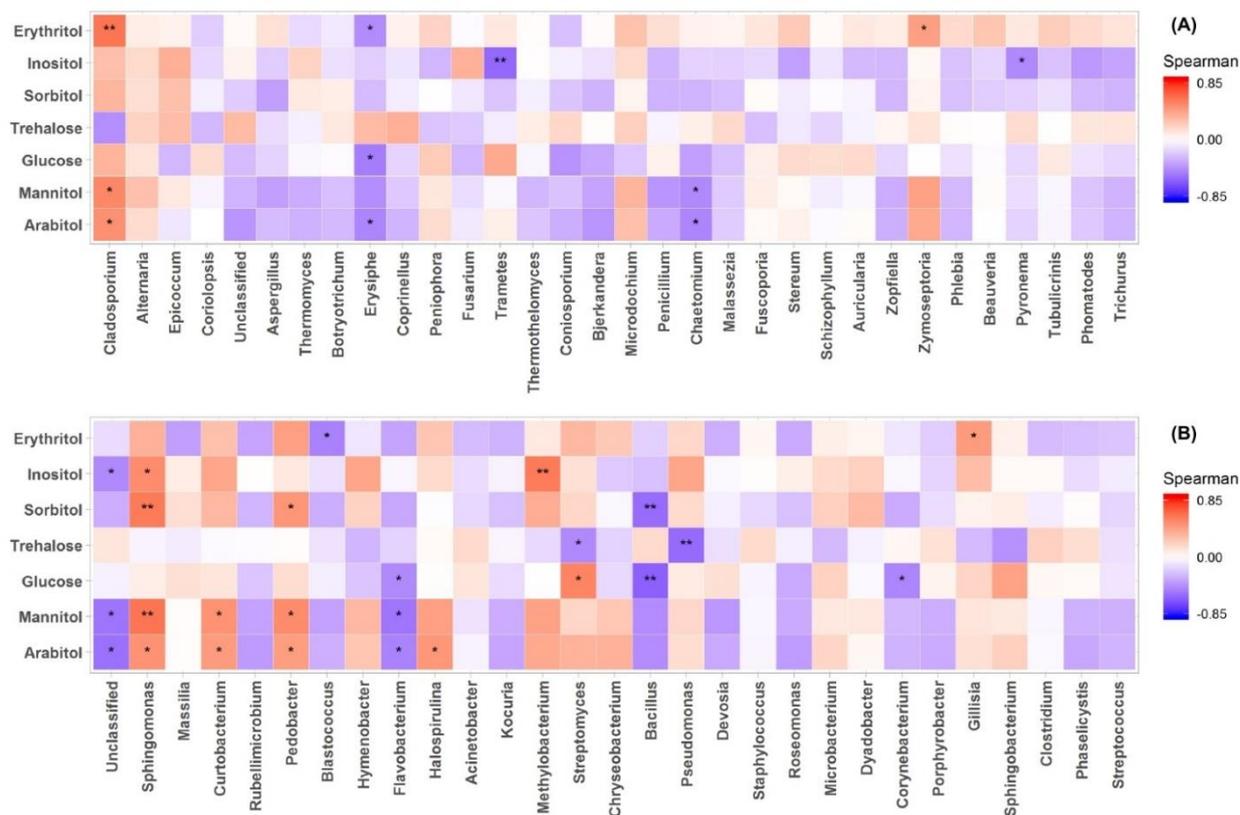


Figure 64 : Corrélation de Spearman entre les concentrations des sucres primaires et l'abondance spécifique de genres microbiens dans les aérosols prélevés à Marseille 5 avenue. (A) et (B) désignent respectivement les genres fongiques et bactériens dominants (> 1%).

5 Conclusions et perspectives :

En conclusion de cette deuxième partie du Chapitre 5, nous avons pu identifier de manière robuste la structure des communautés microbiennes atmosphériques qui contrôlent les évolutions journalières des concentrations atmosphériques en sucres primaires dans les PM₁₀ sur 3 sites répartis dans différentes régions géographiques et climatiques en France. Les résultats obtenus dans cette étude ont permis de mettre en évidence que les concentrations atmosphériques en sucres primaires dans les PM₁₀ sont associées à des microorganismes atmosphériques ayant une distribution régionale. Nos résultats corroborent bien l'idée que les variations temporelles des concentrations en sucres primaires dans PM₁₀ sont régies par des processus d'émissions agissant à une échelle régionale et sous l'influence de facteurs climatiques régionaux. A ce sujet, les taxons microbiens associés aux sucres primaires particuliers proviennent principalement de la végétation, via des émissions à dominance régionale pour les sites de contexte urbain, ou par des émissions à dominance locale pour les sites directement influencés par les activités agricoles. A notre connaissance, les résultats obtenus lors de ces deux campagnes de terrain constituent l'une des premières données reliant les évolutions des concentrations des sucres primaires dans les PM₁₀ à leurs caractéristiques microbiologiques.

A ce stade d'interprétation, nos résultats ne nous permettent cependant pas d'expliquer clairement si variabilités régionales observées sont plus généralement associées aux caractéristiques abiotiques et climatiques des localités géographiques ou bien à la spécificité des espèces végétales qui

constituent la flore sur chacune des régions étudiées. Ces paramètres sont des drivers importants dans la distribution spatiale des communautés microbiennes atmosphériques en termes de diversité et de composition, diversité. Cependant, la littérature sur l'importance relative de chacun de ses facteurs est encore limitée aujourd'hui (Rastogi et al., 2013).

De même, à ce stade, nos résultats n'ont pas permis de déterminer si les sucres primaires dans les PM₁₀ sont liés aux émissions directes de microorganismes ou aux sous-produits émis "par" ou "avec" les microorganismes ou bien encore un mélange de ces deux mécanismes. Une première étape pour avancer sur ce processus serait de doser directement les fractions hydrosolubles et totales de sucres primaires dans les microorganismes identifiés. Compte tenu des variabilités spatiales et temporelles non aléatoires entre les ratios des sucres primaires particulaires atmosphériques, il est possible que nous trouvions des ratios entre espèces chimiques dans l'une des deux fractions (hydrosoluble ou totale) qui reflètent ceux typiquement observés dans les PM₁₀ atmosphériques.

Par ailleurs, au regard du fort caractère régional de la structure des communautés microbiennes atmosphériques associées aux sucres primaires, il serait pertinent réaliser une étude couplant des approches de metabarcoding et de meta-omiques (ex., metaprotéomique), qui permettraient de caractériser respectivement la biodiversité dans sa globalité et les protéines issues de ces communautés microbiennes lors des processus biologiques au cours du temps. Ceci pourrait permettre de mieux comprendre comment les conditions environnementales spécifiques à une région (ex., sources de carbone et d'énergie, type de végétations, facteurs météorologiques, etc.) influencent le fonctionnement des communautés microbiennes atmosphériques (Delmotte et al., 2009) et, par ricochet, mieux comprendre les processus responsables de la variabilité spatiale des empreintes microbiennes associées aux sucres primaires sur les 3 sites étudiés. A notre connaissance, il n'existe cependant aucune étude sur l'interprétation conjointe des données de metabarcoding et de meta-omiques dans un contexte de compréhension des métabolites primaires (ex., protéines, sucres, etc.) produits par les microorganismes atmosphériques sous différentes conditions (géo)climatiques. En revanche, ce type d'approche est souvent utilisé en biologie marine pour étudier la pression d'un écosystème donné sur les eucaryotes (Briand et al., 2018).

Référence:

Andersen, G. L., Frisch, A. S., Kellogg, C. A., Levetin, E., Lighthart, B. and Paterno, D.: Aeromicrobiology/Air Quality, in *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)*, edited by M. Schaechter, pp. 11–26, Academic Press, Oxford., 2009.

Briand, J.-F., Pochon, X., Wood, S. A., Bressy, C., Garnier, C., Réhel, K., Urvois, F., Culioli, G. and Zaiko, A.: Metabarcoding and metabolomics offer complementarity in deciphering marine eukaryotic biofouling community shifts, *Biofouling*, 34(6), 657–672, doi:10.1080/08927014.2018.1480757, 2018.

Bowers, R. M., Lauber, C. L., Wiedinmyer, C., Hamady, M., Hallar, A. G., Fall, R., Knight, R. and Fierer, N.: Characterization of Airborne Microbial Communities at a High-Elevation Site and Their Potential To Act as Atmospheric Ice Nuclei, *Appl. Environ. Microbiol.*, 75(15), 5121–5130, doi:10.1128/AEM.00447-09, 2009.

Clarke, K. and Warwick, R.: Change in marine communities : an approach to statistical analysis and interpretation, in *Primer V : user manual /tutorial*, Plymouth, U.K. : PRIMER-E Ltd. [online] Available from: <https://trove.nla.gov.au/work/20554767>, 2001.

DeLeon-Rodriguez, N., Lathem, T. L., Rodriguez-R, L. M., Barazesh, J. M., Anderson, B. E., Beyersdorf, A. J., Ziemba, L. D., Bergin, M., Nenes, A. and Konstantinidis, K. T.: Microbiome of the upper troposphere: Species composition and prevalence, effects of tropical storms, and atmospheric implications, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 110(7), 2575, doi:10.1073/pnas.1212089110, 2013.

Delmotte, N., Knief, C., Chaffron, S., Innerebner, G., Roschitzki, B., Schlapbach, R., von Mering, C. and Vorholt, J. A.: Community proteogenomics reveals insights into the physiology of phyllosphere bacteria, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 106(38), 16428–16433, doi:10.1073/pnas.0905240106, 2009.

Gonzalez, A., King, A., Robeson II, M. S., Song, S., Shade, A., Metcalf, J. L. and Knight, R.: Characterizing microbial communities through space and time, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 23(3), 431–436, doi:10.1016/j.copbio.2011.11.017, 2012.

Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlenn, D., R. Minchin, P. R., O’Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, Peter, Stevens, M. H. H., Szoecs, E. and Wagner, H.: *Vegan: Community Ecology Package*, [online] Available from: <https://cran.r-project.org>, <https://github.com/vegandevs/vegan> (Accessed 10 April 2019), 2019.

Ottesen, A. R., White, J. R., Skaltsas, D. N., Newell, M. J. and Walsh, C. S.: Impact of Organic and Conventional Management on the Phyllosphere Microbial Ecology of an Apple Crop, *J. Food Prot.*, 72(11), 2321–2325, doi:10.4315/0362-028X-72.11.2321, 2009.

Schmidt, S. K., Nemergut, D. R., Darcy, J. L. and Lynch, R.: Do bacterial and fungal communities assemble differently during primary succession?, *Mol. Ecol.*, 23(2), 254–258, doi:10.1111/mec.12589, 2014.

Sun, S., Li, S., Avera, B. N., Strahm, B. D. and Badgley, B. D.: Soil Bacterial and Fungal Communities Show Distinct Recovery Patterns during Forest Ecosystem Restoration, edited by F. E. Löffler, *Appl. Environ. Microbiol.*, 83(14), e00966-17, /aem/83/14/e00966-17.atom, doi:10.1128/AEM.00966-17, 2017.

Vannette, R. L. and Fukami, T.: Dispersal enhances beta diversity in nectar microbes, edited by N. Fierer, *Ecol. Lett.*, 20(7), 901–910, doi:10.1111/ele.12787, 2017.

Whipps, J. M., Hand, P., Pink, D. and Bending, G. D.: Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype, *J. Appl. Microbiol.*, 105(6), 1744–1755, doi:10.1111/j.1365-2672.2008.03906.x, 2008.

Chapitre 6 : Contributions de particules biologiques atmosphériques au potentiel oxydatif global des aérosols.....	240
Préambule.....	241
Article 5: The unexpected role of bioaerosols in the Oxidative Potential of PM.....	243
Supporting information	254

Chapitre 6 : Contributions de particules biologiques atmosphériques au potentiel oxydatif global des aérosols

Préambule

Dans les chapitres précédents, nous avons pu voir que les aérosols organiques biogéniques primaires constituent une fraction très importante de la MO présente dans les PM₁₀ atmosphériques. Ils représentent en moyenne annuelle 13 ± 4 % de la MO dans les PM₁₀ en France, et jusqu'à 40% en période estivale pour certains sites en région alpine. Nous avons également vu que les fortes concentrations atmosphériques en sucres primaires, considérés comme de bons traceurs moléculaires des PBOAs, sont associées à des communautés microbiennes atmosphériques issues des végétaux et dont la distribution est homogène à l'échelle d'une région du territoire français.

Comme déjà évoqué dans les Chapitres 1 et 2, les matières particulaires atmosphériques (PM) possèdent un potentiel oxydatif intrinsèque, une métrique récente autour de laquelle de nombreuses études sont actuellement conduites car les résultats en font une bonne candidate comme une métrique sanitaire complémentaire aux mesures de concentration massique des PM pour les prochaines réglementations de la qualité de l'air. Du fait de la composition très complexe des PM, les études évaluant le PO des PM se focalisent majoritairement sur sa fraction chimique. Si le niveau de connaissances de la contribution individuelle de certains composés chimiques atmosphériques (ex., les métaux de transition, composés organiques redox actifs, etc.) au PO global des PM a relativement bien augmenté ces dernières années, environ 30% du PO global demeurent généralement inexplicés (Charrier et al., 2015)

Ce manuscrit a déjà souligné de l'importance des particules d'origine biologique dans l'atmosphère et leur contribution importante à la masse des particules. Pour autant, leur contribution au potentiel oxydant des aérosols était jusque-là méconnue. On peut alors se demander si les particules d'origine organique biogénique primaire contribuent, au moins en partie, à cette large fraction inexplicée du PO des PM. Ainsi, caractériser individuellement le PO de bioaérosols bien identifiés ainsi que leurs associations avec d'autres espèces chimiques spécifiques connues pour leur toxicité (comme par ex. le cuivre) semble être un verrou important pour améliorer nos connaissances sur la contribution biogénique des composants atmosphériques à la qualité globale de l'air et aux impacts sanitaires associés. C'est dans cette optique que s'inscrivent les travaux présentés dans ce sixième chapitre de thèse, qui visent à prendre en compte de manière originale la contribution des PBOAs dans le potentiel oxydant global des PM. Plus précisément, les principaux objectifs de ce chapitre de thèse sont :

- Adapter et optimiser la mesure du potentiel oxydant des bioaérosols par le test acellulaire au dithiothréitol (DTT).
- Quantifier le potentiel oxydant (PO) des bioaérosols et évaluer la contribution des bioaérosols au potentiel oxydant global des polluants particulaires atmosphériques.

Afin de parvenir à ces objectifs, ce travail repose sur l'évaluation du PO de bioaérosols modèles, qui sont fréquents dans l'atmosphère et bien représentés à la fois dans l'air ambiant extérieur et intérieur. La stratégie retenue ici a consisté dans un premier temps, à évaluer le PO intrinsèque des bioaérosols

modèles sélectionnés. Dans un second temps, leur capacité à influencer ou à moduler le PO de composés chimiques purs (ici, le cuivre et la 1,4 naphthoquinone) a été également évaluée. Ces deux composés chimiques sont connus pour leur forte réactivité rédox et contribution au PO global des PM (Calas et al., 2018; Charrier and Anastasio, 2012). Enfin cette capacité des bioaérosols modèles à moduler le PO de composés chimiques a été testée sur des filtres réels de prélèvements de PM dans l'air ambiant collecté sur des sites d'études contrastés en termes de typologie.

Cette étude sera présentée ci-dessous sous la forme d'un article publié par le groupe de communication « *Nature Scientific Report*, DOI : <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11178-0> ». Ces résultats présentés ci-après plaident en faveur de la prise en compte systématique des bioaérosols dans l'évaluation de la qualité de l'air.

Article 5: The unexpected role of bioaerosols in the Oxidative Potential of PM

Nat. Sci. Rep., 7, 2017, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11178-0>

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN The unexpected role of bioaerosols in the Oxidative Potential of PM

A. Samake¹, G. Uzu¹, J. M. F. Martins¹, A. Calas¹, E. Vince¹, S. Parat² & J. L. Jaffrezo¹

Received: 20 March 2017

Accepted: 9 August 2017

Published online: 08 September 2017

Bioaerosols represent up to 15–25% of PM by mass, but there is currently no assessment of their impact on Oxidative Potential (OP), or capacity of particulate matter (PM) to produce damaging oxidative reactions in the human lungs. Here, the OP of selected bioaerosols (bacteria cells vs fungal spores) was assessed through the cell-free DTT assay. Results show that bioaerosols induce Reactive Oxygen Species (ROS) production, varying along the microorganism type, species, and concentration. Fungal spores show up to 10 times more ROS generation than bacterial cells. At the highest concentrations, fungal spores present as much oxidative reactivity as the most redox-active airborne chemicals (Copper, Naphtoquinone). Moreover, bioaerosols substantially influence OP of ambient PM and that of its chemical constituents: in presence of *A. fumigatus* spores, the OP of Cu/NQ is increased by a factor of 2 to 5, whereas, 10^4 and 10^5 *S. epidermidis* bacterial cells.mL⁻¹ halves the OP of Cu/NQ. Finally, viable and gamma-rays-killed model bioaerosols present similar oxidative reactivity, suggesting a metabolism-independent cellular mechanism. These results reveal the importance of bioaerosols for PM reactivity. PM toxicity can be modified due to bioaerosols contribution or by their ability to modulate the OP of toxic chemicals present in PM.

Atmospheric particulate matter (PM) is defined as a complex and dynamic mixture of particles from both chemical and biological origins^{1,2}. Exposure to PM has been linked with a wide range of deleterious health effects in both humans and animals. These include among others, cardiopulmonary disease, lung cancer, or asthma^{3–5}. Atmospheric concentration of PM is regulated (e.g. annual average threshold in Europe is 40 µg.m⁻³ for PM₁₀), but more than mass, detrimental effects are strongly associated with PM composition, surface area and size^{5–8}. The atmospheric research community is currently working on alternatives to the mass concentration of PM to find relevant health and exposure metric, involving more PM properties^{9,10}. One underlying mechanism explaining many health effects of PM is its capacity to carry out or catalyze the formation of reactive oxygen species (ROS) within lung cells, responsible for further oxidative stress and airway inflammation^{9–12}. This intrinsic property of PM called oxidative potential (OP) is easily revealed in biochemical and acellular assays by monitoring anti-oxidants depletion when in contact with PM.

While the physical and chemical properties of PM have been extensively investigated, relatively little is known about primary biological airborne particles (PBAP) also known as bioaerosols^{2,13–15}. They comprise living and dead microorganisms such as bacteria, fungi, viruses, bacterial and fungal spores, and microbial fragments, endotoxins, mycotoxins, pollens etc.^{13,14,16}. Microorganisms in bioaerosols can survive as single cells or attached to dust particles or hydrated aerosol particles. Most bioaerosols range in size from micrometer to submicrometer^{17–19}. Due to their light weight and size range, bioaerosols can be transported over long distances¹⁹, for example, transferred by wind, making them complex, highly variable and ubiquitous in both indoor and outdoor environments. Cultivable bioaerosols (bacteria, fungi) have been detected at high concentration in indoor and outdoor air^{20–23}. Recent findings indicate that in most areas, bioaerosols can account for up to 15–25% of total PM mass^{13,14,16,24} and higher concentrations have been reported in Amazonian areas (from 74 to 80% of PM mass)^{16,24}. Their concentration and composition fluctuate primarily depending on the sources impacting the site under consideration (e.g. soil, lakes, sewage treatment plants, agricultural activities etc.), the aerosolization mechanisms, and the physical and environmental conditions (e.g. shape, size, temperature, relative humidity, etc.) prevailing at each site^{19,25}. Usually, airborne fungi exist as spores while bacteria are cells²⁶. Bioaerosol concentration in indoor/outdoor air ranges from 10¹ to 10⁵ microorganisms.m⁻³^{20,22,27}. Higher concentrations (up to 10⁵–10⁷ microorganisms.m⁻³) have been measured in rainforest environments or polluted areas (e.g. waste water treatment plants, composting facilities etc.)^{20,28}.

¹Université Grenoble Alpes, CNRS, IRD, IGE (UMR 5001), F-38000, Grenoble, France. ²Air et Bio, F-73 000, Chambéry, France. Correspondence and requests for materials should be addressed to G.U. (email: gaelle.uzu@ird.fr)

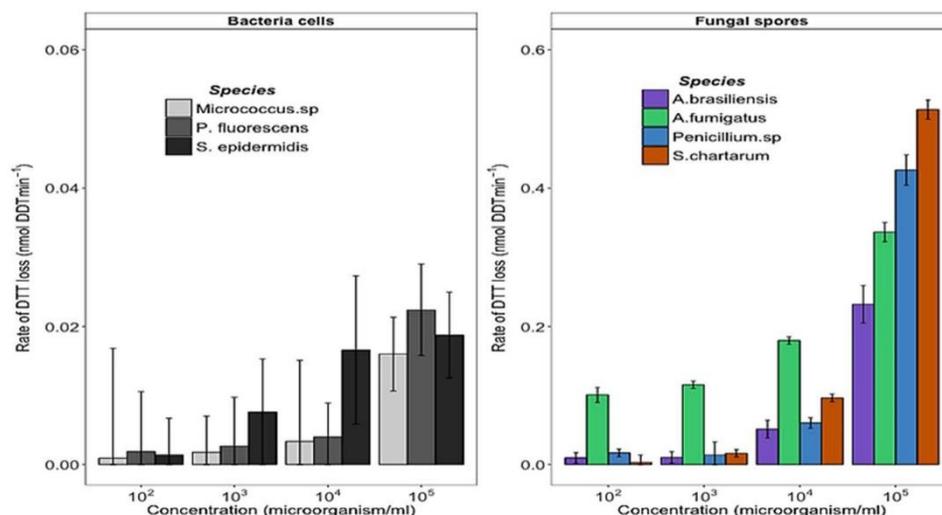


Figure 1. Intrinsic oxidative reactivity of model bacterial and fungal bioaerosols at increasing concentrations measured with the DTT assay. Error bars correspond to standard deviations calculated with triplicates. The highest bioaerosols concentration of 10^4 – 10^5 cells. ml^{-1} translated into atmospheric concentrations are commonly observed in occupational and polluted environments, while the lowest (10^3 or less) are usually observed in clean outdoor atmospheres.

More recently, attention has been given to the PM_{10} bioaerosol fraction since evidence is growing about their implication in negative effects of PM both on climate (e.g. bioaerosols can interact with UV radiation, photo-oxidants and can also serve as nuclei for ice crystals and cloud droplets, thereby influencing the formation of clouds and precipitation, etc.)^{14–16} and on human health^{4,14,29}. Inhalation is the primary route of exposure to bioaerosols³⁰. Inhalation of high concentrations of fungal spores, bacterial cells, and their derivatives in indoor/outdoor environments is associated with serious inflammation-related health risks such as asthma, chronic obstructive pulmonary disease, aspergillosis, and immunological reactions^{3,4,26}. Bioaerosols can also be responsible for infectious diseases such as tuberculosis, meningitis, and legionellosis^{22,25}. In addition, dose-response relationships exist between inhalation of airborne microorganisms and the development or exacerbation of asthma symptoms in humans^{31,32}. As for the chemical components of PM, it is worth noting that the pathogenicity of bioaerosols also depends on the number of inhaled microorganisms, their chemical composition, and their size^{30,33}.

Studies addressing the OP of PM are currently focusing only on the chemical fraction^{2,3,10,34}, while the impact of bioaerosols are unaccounted for. For example, Charrier and Anastasio (2015) attributed about 30% of overall OP of PM to unidentified components of submicron fine particles collected in Fresno during summer¹². So, a reasonable hypothesis could be that bioaerosols may account for part of this unexplained fraction. In support of this, Vaitlingom *et al.*, (2013) among others have shown biodegradation of hydrogen peroxide (H_2O_2) by cloud-borne microorganisms^{35,36}, highlighting that cloud-borne microbial communities could also interact with H_2O_2 oxidants (or other kinds of ROS) involved in the oxidative stress.

Therefore, our study was conducted in order to initiate the assessment of the contribution of bioaerosols to the oxidative potential (OP) of ambient PM. Within this framework, measurement of OP with the acellular DTT assay^{10,34} was firstly adapted to viable bioaerosols and reliability of the results was evaluated with ascorbic acid (AA) and the 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH) cell-free methods. Then, OP of isolated model bioaerosols (cells and spores) and that of model bioaerosols associated with real ambient PM and highly toxic model airborne chemicals (copper and 1,4-naphthoquinone) were assessed based on the acellular DTT assay, using realistic environmental concentrations of both bioaerosols and ambient or model PM. Linearity as a function of concentration of PM (i.e. chemical and biological fraction of PM) was also investigated. The final purpose of this work was to begin to explore some of the main processes by which bioaerosols may contribute to the overall OP of PM.

Results and Discussion

Oxidative potential of model bioaerosols. All of the tested model bioaerosols induced DTT depletion, which varied among the tested microorganisms and concentrations (Fig. 1). Likewise model bioaerosols, the oxidative reactivity of airborne redox-active chemical compounds (e.g. Cu, NQ, etc.) also varied with the tested species and concentration^{12,37,38}. Bacterial cells induced a very low DTT oxidation (~ 10 – 20 pmolDTT. min^{-1}) within the 30 min. experiments, but this rate tended to increase with increasing concentrations. Figure 1 also shows that fungal spores present ten times more oxidative reactivity than bacterial cells. Such ROS producing activity trends of model bioaerosols were also observed with DCFH acellular method (Fig. S1A). By contrast, the tested model bioaerosols were not able to induce significant ascorbic acid (AA) depletion (Fig. S1B). Such result with AA assay is not surprising since AA is a natural antioxidant that is usually used to assess oxidative potential

Tested concentrations (Bacteria or spores.mL ⁻¹)	Tested concentrations, converted in (Bacteria or spores.m ⁻³)	Indoor air (Bacteria or spores.m ⁻³)	Outdoor air (Bacteria or spores.m ⁻³)	Occupational settings (Bacteria or spores.m ⁻³)
10 ⁵	1,82*10 ⁵	10 ¹ –10 ⁴	10 ¹ –10 ⁵	10 ¹ –10 ⁷
10 ⁴	1,82*10 ⁴			
10 ³	1,82*10 ³			
10 ²	1,82*10 ²			

Table 1. Concentrations of viable and cultivable bioaerosols in different environmental backgrounds and conversion rates of tested concentrations (adapted from^{18, 22, 23, 27}). *Occupational settings correspond to composting facilities.

of transition metals. In this assay, AA usually reduces metal ions and oxygen to finally generate hydroxyl radical, via a Fenton like reaction.

Among the tested fungal spores, only those of *A. fumigatus* presented a significant oxidative reactivity for all tested concentrations, consistently with the results of several *in vivo* and *in vitro* studies assessing the inflammatory potential of non-pathogenic fungal spores involved in airway inflammation^{39, 40}. Shahan *et al.*, (1998) demonstrated that the secretion of pro-inflammatory proteins (e.g. MIP-2, TNF- α etc.) by rat alveolar macrophages is differentially induced by fungal spores³⁹. For instance, in this last study, among the tested *Aspergillus* species, the spores of *A. fumigatus* were able to stimulate the production of pro-inflammatory cytokines (MIP-2, TNF- α , KC etc.) while those of *A. terreus* were not. Other studies assessing the toxicological impacts of bioaerosols collected in various occupational backgrounds indicated that all sampled bioaerosols (i.e. *A. fumigatus*, actinomycetes, endotoxins, total bacteria etc.) are able to increase the production of ROS of the “granulocyte-like HL60” cell lines^{41, 42}. The intensity of ROS production was dependent upon the nature and amount of bioaerosols^{41, 42}. Indeed, Timm *et al.*, (2009) demonstrated through a multiple regression modeling that the inflammatory potential induced by fungal spores better explains the total inflammatory potential of bioaerosols⁴¹, thus supporting the significant differences in antioxidant depletion observed between the bacterial cells and fungal spore tested in our study.

These findings indicate that inhalation of current indoor/outdoor and/or occupational environmental concentrations of bioaerosols (Table 1) could be responsible for respiratory impairments observed elsewhere^{3, 4, 25}. To the best of our knowledge, there is currently no regulated exposure limit for bioaerosols although several recommended maximum limits have been proposed^{4, 23, 40, 43, 44}. For instance, based on inflammatory respiratory effects in animal models, Eduard *et al.*,^{4, 40} have proposed a “lowest observed effect level” (LOEL) of 10⁵ spores.m⁻³ for non-pathogenic and non-mycotoxin producing fungal species. When converted to liquid concentrations (under the assumption of Table S1), this LOEL is in the same range of that of fungal spores that presented significant oxidative reactivity in the present study. However, one should keep in view that the DTT assay is a cell-free method which therefore does not take into account cellular and individual susceptibility (i.e. of animals or humans). Studies on bacterial and fungal aerosols in diverse central and eastern European indoor environments have proposed the values of 1 to 7.10³ viable and cultivable bacterial cells.m⁻³ as a limit for dwellings and communal premises^{40, 43, 44}. For such non-pathogenic bacteria concentrations, the oxidative reactivity measured in this study was always insignificant. Hence the use of this low threshold should ensure a better protection against airborne non-pathogenic bacterial cells for potentially exposed persons.

Effect of bacterial cells on the intrinsic oxidative reactivity of model atmospheric chemicals.

To evaluate if the presence of bioaerosols significantly influences the oxidative reactivity of model airborne chemical compounds, we measured the oxidative reactivity of 1 μ M copper (Cu) and 1 μ M naphthoquinone (NQ) in absence or presence of *S. epidermidis* cells at increasing concentrations (*S. epidermidis* was chosen because it presented a clear dose-response relationship when in contact with DTT, as shown in Fig. 1). As illustrated in Fig. 2, the oxidative reactivity of Cu gradually decreased when the concentrations of *S. epidermidis* cells increased. The oxidative reactivity of Cu was halved when in contact with 10⁴ to 10⁵ bacterial cells.mL⁻¹. At concentrations equal or lower than 10² cells.mL⁻¹, no effect was observed on the OP of Cu. Similar trends were observed with NQ, indicating that *S. epidermidis* cells are able to modulate the intrinsic reactivity of Cu and NQ towards DTT. This clearly suggests that this bacterial species presents an “anti-oxidant” effect against both Cu and NQ.

This protective effect may be explained by the interaction of these chemicals (adsorption or uptake) with bacterial cells, thus reducing their availability for reacting with DTT. Numerous studies have shown that bacterial cells walls present huge amounts of reactive sites (carboxyl, phosphoryl, amino, or sulfate groups) capable of chemical complexation^{45–48}. Once deprotonated, these groups become anionic and therefore available for complexation of cationic chemicals (such as Cu²⁺) in aqueous solution. The processes involved in the limitation of quinones’ oxidative potential could be different, as quinones can diffuse freely into the lipid bilayers of the cells walls, where they can be trapped^{49–51}, thus becoming less available for reacting with DTT. Moreover, some studies have evidenced the formation of hydrogen bonds between the reactive functional groups present on bacterial cells walls and quinones or derivatives⁴⁹. These two types of interactions between *S. epidermidis* cells walls and NQ or Cu may explain the lower reactivity of NQ (or Cu) in presence of important concentrations of *S. epidermidis* cells.

The same experiment was performed with *P. fluorescens* and *Micrococcus sp.* but only at a concentration of 10⁵ cells.mL⁻¹ (because of their low DTT response at lower concentrations, Fig. S2). The observed trends were slightly different from those measured with *S. epidermidis* cells. These bacterial species presented low oxidative

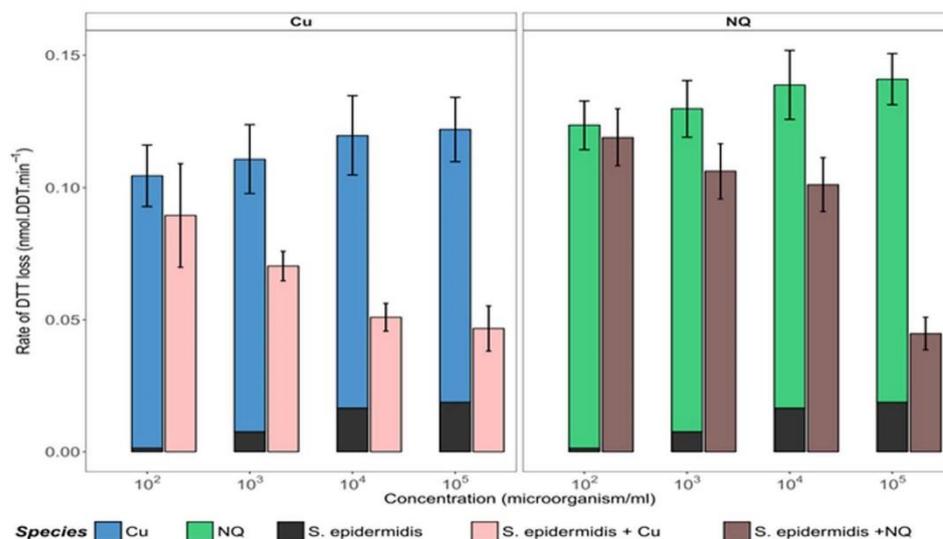


Figure 2. Oxidative reactivity of copper (Cu) and 1,4-naphthoquinone (NQ) in the presence of increasing concentrations of *S. epidermidis* cells, measured with the DTT cell-free assay. Error bars correspond to standard deviations calculated with triplicates. Rates of DTT loss from single species and mixtures of *S. epidermidis* cells and Cu/or NQ are compared to those calculated as the sums of individual solutions. Asterisks indicate cases where measured and calculated rates of DTT loss are statistically different (Wilcoxon rank-sum test, $n = 3$, $p \leq 0.1$).

reactivity, which added up to that of Cu (additive depletion of DTT). However this was not the case for NQ, for which intrinsic oxidative reactivity decreased in the presence of the bacterial cells. For example, in the presence of *Micrococcus sp.*, the oxidative reactivity declined by almost 40% with the mixture as compared to that calculated as an individual sum from NQ and *Micrococcus sp.* The discrepancy in effects of the 3 tested bacterial species on oxidative reactivity of Cu or NQ could be due to differences in cell wall composition (different nature and density of functional groups). The cell wall of Gram positive bacteria (e.g. *S. epidermidis*, *Micrococcus sp.*, etc.) is known to contain important amounts of peptidoglycan (rich in reactive carboxyl, phosphoryl and amino groups etc.) as well as of teichoic and teichuronic acids (containing carboxyl groups)^{45,46}. On the contrary, Gram negative bacterial cells (e.g. *P. fluorescens*) present external membranes with many proteins (glycosylated proteins, hydrophilic channels or porins etc.), much less peptidoglycan and lack teichoic and teichuronic acids⁴⁵⁻⁴⁷, thereby being potentially less reactive towards Cu or NQ.

Effect of fungal spores on the intrinsic oxidative reactivity of (atmospheric) model chemical compounds.

Using the same procedure as for bacteria, the OP of 1 μM Cu and 1 μM NQ, (chemicals commonly observed in the atmosphere) was assessed in the presence of increasing concentrations of airborne spores of *A. brasiliensis*, *A. fumigatus*, *S. chartarum* and *Penicillium sp.* The results observed for *A. brasiliensis* are shown in Fig. 3 where the rate of DTT loss clearly varied with the concentration of fungal spores. For instance, the oxidative reactivity of Cu and NQ doubled and tripled in presence of 10^4 and 10^5 spores. mL^{-1} of *A. brasiliensis*, respectively. Similar increases in oxidative reactivity, but of variable intensity, were observed with the other fungal spores (see Fig. S3). These observations support the cumulative effect of the intrinsic oxidative reactivity of airborne chemicals and fungal spores.

To further investigate this cumulative effect of OP, we compared the rate of DTT depletion induced by a mixture of *A. brasiliensis* spores and Cu, NQ, or both chemicals, with the sum of DTT depletions measured with individual biological and chemical species used at the same concentrations. The results show good agreement between the DTT depletion measurements obtained with both methods (Fig. 3), confirming that the intrinsic oxidative reactivity of fungal spores and airborne chemical compounds can be considered as cumulative. These observations are in agreement with the results of studies showing linearity and additivity of individual contributions of airborne chemical species to overall OP^{12,37}.

Effect of cell viability on the oxidative reactivity of atmospheric PM.

Since both viable and dead microorganisms can be found in atmospheric PM, in parallel to the reactivity of viable airborne microorganisms, we also studied their oxidative potential after gamma-rays inactivation. It is worth noting such physical inactivation method of living cells/spores was chosen in order to avoid the use of toxic chemicals, which are likely to interfere with the acellular assay. Gamma-rays do not alter cell-wall integrity in the short term unlike other methods used to inactivate microorganisms such as thermal or chemical treatments. Optical microscopy pictures of inactivated cells and spores are provided in Figure S4. The intrinsic oxidative reactivity of inactivated fungal

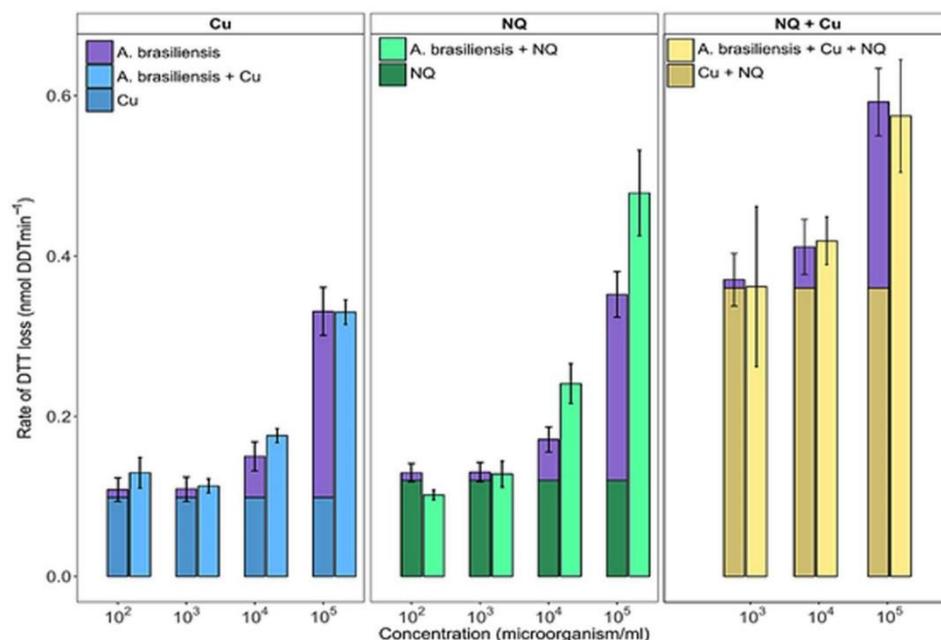


Figure 3. Comparison of the rates of DTT depletion induced by mixtures of *A. brasiliensis* spores and model airborne redox-active chemicals (Cu, NQ and Cu + NQ) with those calculated as the sum of individual DTT depletion rates (clustered bar graphs). Statistical differences are highlighted with an asterisk ($n = 3$, p -value ≤ 0.1). Error bars represent standard deviations calculated from triplicate measurements.

spores and bacterial cells was evaluated in the presence and absence of real ambient PM samples. This approach also gave information on the main process involved in ROS generation by bioaerosols.

The results presented in Fig. 4 show that inactivated spores of *A. fumigatus* present the same DTT response as viable spores. Similarly, the rate of DTT loss induced by the mixture of inactivated spores of *A. fumigatus* and ambient PM collected at the urban background site of Passy (Vallée de l'Arve, France) remained equal to the sum of individual reactivity. Similar patterns were also obtained with ambient PM collected in a very different environment which is a subway platform in Toulouse, France, (Fig. S5). This suggests that the contributions of inactivated fungal spores and ambient PM add up, as already shown with viable cells. Similar patterns can be observed in Fig. 4 with *S. epidermidis* inactivated cells, although the effect is less pronounced. These findings highlight that oxidative reactivity of airborne microorganisms is most probably based on a non-active mechanism since dead spores/cells present quantifiable OP values similar to those measured with active cells and spores (Fig. S6). These results indicate that the oxidative process could relate to the outer cell/spore wall reactivity. It could be hypothesized that intrinsic oxidative reactivity of airborne microorganisms derive from passive redox-activity induced by the high density of functional chemical groups present at the external part of the wall of all living/dead cells, and in particular of bacterial cells and fungal spores, which could ensure DTT dehydrogenation into its disulfide form in presence of dioxygen, one of the major reactions involved in ROS generation through the DTT cell-free assay (chemical mechanisms are provided in Fig. S7).

Several *in vivo* studies are also related to this question, but they are not yet fully conclusive. Our results are consistent with the work by Hohl *et al.*, (2005), based on the *in vivo* study of immune competent mice, which demonstrated that *A. fumigatus* spores induce comparable inflammatory cell influx before and after being heat-killed⁵². This last study also showed that active metabolism is not critical for the underlying process, which is probably mediated by β -glucans exposed at the outer spore-walls⁵². Other findings suggested more complicated processes implying an “unknown” protein^{53,54}. For instance, by comparing control groups with mice inoculated with viable and non-viable *P. chrysogenum* spores, Cooley *et al.*, (2000) indicated that mice exposed to viable spores produce significant total IgE serum whereas that exposed to non-viable spores did not⁵³. This suggests that the process is not related to the spore/cell wall constituents, because the same constituents are found onto both active and non-viable microorganism wall. Noteworthy is that the precise underlying mechanism is still not clearly understood⁵⁵.

Conclusions

This study aimed at evaluating the intrinsic oxidative reactivity of model bioaerosols (bacterial cells and fungal spores) through the use of an acellular assay (DTT depletion), and their role in the overall Oxidative Potential of atmospheric PM. Four main results were obtained. (1) The tested model bioaerosols presented intrinsic oxidative reactivity, which varies with the type of microorganisms (bacterial cells vs fungal spores), the species, and

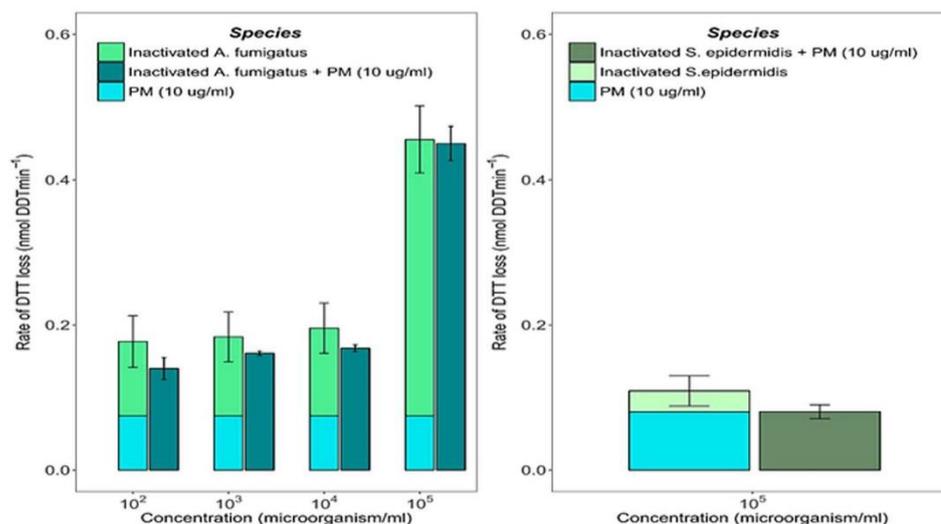


Figure 4. (I) Rates of DTT consumption by model bioaerosols inactivated by gamma-rays: (a) = Spores of *A. fumigatus* and (b) = *S. epidermidis* cells. (II) Clustered bar graphs highlight the rate of DTT loss induced by the mixture of model bioaerosols and ambient PM collected in Passy (Vallée de l'Arve, France) whereas the stacked bars were calculated as the sum of individual oxidative reactivity of ambient PM and gamma-rays inactivated airborne microorganisms. Error bars correspond to standard deviations calculated with triplicates.

the cells/spores concentrations. At the highest tested concentrations of 10^4 and 10^5 spores.mL⁻¹ (which could translate into the current atmospheric levels of bioaerosols observed in specific occupational backgrounds such as composting facilities, agricultural zones etc.), fungal spores present oxidative reactivity similar to those of the most redox-active airborne chemicals (e.g. Cu and NQ) and up to 10 times more reactivity than bacterial cells. At concentrations equal or lower than 10^3 microorganisms.mL⁻¹ (which could translate into the most current indoor/outdoor bioaerosol levels), all of the tested model bioaerosol presented insignificant OP, except *A. fumigatus* which is an opportunistic pathogens. (2) The OP of mixtures of fungal spores with natural PM or model airborne chemicals (Cu or NQ) are similar to the sum of individually measured OP values, thus confirming a cumulative effect of the OP of mixed reactants. (3) Bacterial cells (*S. epidermidis*) strongly reduced the OP of Cu and NQ, in relation with a protective action of these bacteria against oxidation, probably related to cell wall chelation of these chemicals, which thereby decreases their availability for reacting with DDT. This mechanism has been widely considered for modeling interactions between bacterial cells and heavy metals, referring to a surface complexation process. (4) Finally, experiments with gamma-rays inactivated airborne microorganisms have shown that oxidative mechanisms occurring at the surface of fungal spores and bacterial cells are probably non-metabolic (passive) as viable and gamma-rays inactivated cells or spores presented similar OP values. Although further studies are needed to better understand the underlying mechanisms, these results suggest that ROS production by bioaerosols is probably independent of cell's metabolism.

Altogether these results show the importance of accounting for the contribution of bioaerosols when assessing the overall oxidative potential of ambient PM. Further work is needed to better understand the role of bioaerosols in the global toxicity of PM especially by considering the complexity of airborne microbial communities (bacteria cells, fungal spores, viruses etc.) and their byproducts (endotoxins, mycotoxins, etc.), pollen, plants debris etc. which can positively or negatively modulate the OP of PM. It would be important to fully assess the impact of bioaerosols on health for the initiation of health alerts by authorities, since both the type of airborne microorganisms and their concentration were shown in the present study to control the oxidative reactivity of natural PM.

Material and Methods

Selection of model bioaerosols. Some common atmospheric bacterial and fungal species have been selected^{17, 18, 23, 30, 56, 57}. For bacteria, two Gram positive cocci (*Staphylococcus epidermidis* and *Micrococcus sp.*) and one Gram negative rod (*Pseudomonas fluorescens*) were selected. Concerning fungi, spores of *Stachybotrys chartarum* and *Penicillium sp.* and of *Aspergillus brasiliensis* and *Aspergillus fumigatus* were used. These fungal species are commonly used in exposure models because of their frequent occurrence in indoor air contamination⁵⁵.

A. fumigatus is involved in various health issues such as severe invasive aspergillosis in immune-compromised people, or in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *S. chartarum* is of particular interest in indoor environments due to its ability to colonize damp and to produce mycotoxins (trichotecenes) responsible for respiratory and neurological effects^{22, 58}. It should be emphasized that all selected microorganisms are commonly found in outdoor or indoor environments.

Sampling airborne bioaerosols. Commercial reference strains (CIP69.13 T, ATCC 14 990 and ATCC 16404, respectively) were used for *P. fluorescens*, *S. epidermidis* and *A. brasiliensis*. The other species were isolated from urban and natural environments: indoor for *Micrococcus sp.*, *S. chartarum* and *Penicillium sp.*, and outdoor for *A. fumigatus*. Air samples were collected using a one stage Andersen impactor at a flow rate of 28.3 L.min⁻¹ for 4 minutes⁵⁹. These microorganisms were directly impacted onto solid culture media: Malt Extract Agar culture for fungi and Trypticase Soy Agar for bacteria. Plates were incubated at 27 °C for 5 days. Colonies were identified by macroscopic and microscopic examinations, using lactophenol blue stain for fungi and Gram staining for bacteria.

Culture of isolated model bioaerosols. For each previously isolated and identified microorganism species, a single colony was cultured on biological culture media: Luria-Bertani (LB, Biolife Italiana, Milan) for bacterial cells and Malt agar (MA, Biolife Italiana, Milan) for fungal spores. The inoculated culture plates were incubated at 30 °C, for 2 and 5 days, for bacterial cells and fungal spores, respectively. This step was intended to collect the cells and/or spores in their exponential growth phase (See Fig. S8A,B).

For bacterial cells, a single colony of each isolated strain was inoculated in 10 mL Luria Bertani liquid medium (LB, Biolife Italiana, Milan) and grown at 30 °C for 2 days, with agitation at 150 rpm. Preliminary experiments indicated that the liquid culture media were not suitable for the cell-free OP assays, due to very fast and important depletion of antioxidant in the negative controls. These media contain reactive chemical compounds, such as transition metals (e.g. Fe), which are known to cause high DTT depletion. To avoid such interferences during the DTT assay, bacterial cells suspensions were centrifuged for 10 min at 5000 g (at ambient temperature). The bacterial pellet was suspended aseptically in 10 mL of sterile chelex treated phosphate buffer ([PO₄] = 1 M; pH = 7.4 ± 0.1). This cells-cleaning process was repeated three times.

Concerning fungal spores, a single colony of each isolated microorganism was inoculated onto malt agar plates and then grown at 30 °C for 5 days. The growth of fungal spores into liquid medium gave rise to filamentous structures (mycelia), which were not investigated in the present study. Hence, after fungi culture onto solid culture media for 5 days, fungal spores were collected in sterile ultrapure deionized water (UP Water), by gently scraping the surface of culture medium with sterile swabs. The swabs were soaked in 10 mL UP water and stripped by vortexing, in order to recover the maximum of spores. This process was performed several times to get enough spores without incorporating culture medium in spores' suspensions.

Quality and enumeration of microbial suspensions. To ensure that there was no contamination during the cells/spores culture steps, culture purity was visually controlled by optic microscopy (Axioscope, Zeiss): 10 µL of microbial suspensions and serial dilutions (1:10 to 1:10000) were loaded between glass slides and coverslips. The presence of single shape cells was verified systematically and the number of cells/ spores was determined in order to determine liquid concentrations: at least 100 bacterial cells or fungal spores were counted in several microscope fields⁶⁰, in order to obtain enumerations with estimated errors lower than 15%.

Gamma rays inactivation of bioaerosols. To evaluate if the oxidative potential of airborne microorganisms is linked with active or passive metabolic mechanisms, some model bioaerosols were inactivated with gamma-rays. Briefly, microbial suspensions prepared in glass tubes were irradiated with gamma-rays at 10 kGy for 16 h (CEA facilities, Grenoble, France). After irradiation, cell wall integrity was checked by optical microscopy and the absence of cell viability was also tested by culturing aliquots of the gamma-irradiated samples, which revealed always negative.

Sampling ambient particulate matter (PM) - Extraction of atmospheric PM and pure chemical compounds. PM₁₀ samples were collected on quartz filters with a high-volume air sampler (DA-80) at a flow rate of 30 m³/h over 24 h. Sampling was achieved in different environments in France: Passy (Vallée de l'Arve, in winter)⁶¹ and Toulouse (subway station).

To evaluate the effect of bioaerosols on the OP of ambient PM, 5 mm diameter punches of filters were extracted in UP water by shaking for 2 hours at 37 °C in the dark. Filter extracts were then centrifuged (at 1500 rpm for 5 min) at 4 °C, to separate the filter residue and the supernatant, which was used for the OP measurement.

For model chemical compounds, appropriate amount of copper (Cu) and 1,4-naphthoquinone (NQ) were also dissolved in UP water by shaking the for 40 min at 37 °C in the dark condition. These chemical species were selected since they are known to be highly redox-active and widely used as positive controls in OP studies^{12,34}.

OP measurement: adaptation of the DTT assay to bioaerosols oxidative potential measurements. The dithiothreitol (DTT) assay is a cell-free method commonly used to assess the oxidative potential of airborne redox-active chemical compounds^{62,63}. Briefly, DTT consumption is continuously monitored when in contact with PM, and the depletion of DTT (in excess) is proportional to the concentration of redox-active species present in PM. The protocol established by Charrier and Anastasio, (2012) was adapted to fit our constraints, and significant changes were brought in the sample pretreatment step^{10,34}.

The loss of DTT was monitored with a semi-automated method conducted in 48 wells plates: intrinsic light absorbance of the mixture was measured at 412 nm on a plate-reader (TECAN spectrophotometer Infinite[®] M200 pro). The procedure was as follows: 50 µL of model bioaerosols suspensions and/or 50 µL of PM extracts were incubated with an appropriate quantity of 1 M phosphate buffer (pH = 7.4 ± 0.1, pre-incubated at 37 °C) in a final volume of 550 µL. Triplicates of each sample were used for kinetic studies. The reaction was initiated by adding 50 µL of DTT (0.5 mM DTT solution in phosphate buffer) to each well (including the negative controls). The reaction was stopped at 3 specific times (0, 15 and 30 min) by adding 100 µL of 1 µM 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB). The reaction between the remaining DTT and DTNB gives rise to a yellowish color (thionitrobenzoate; TNB) which can be monitored at 412 nm (maximum absorbance). Measurement repeatability was assessed

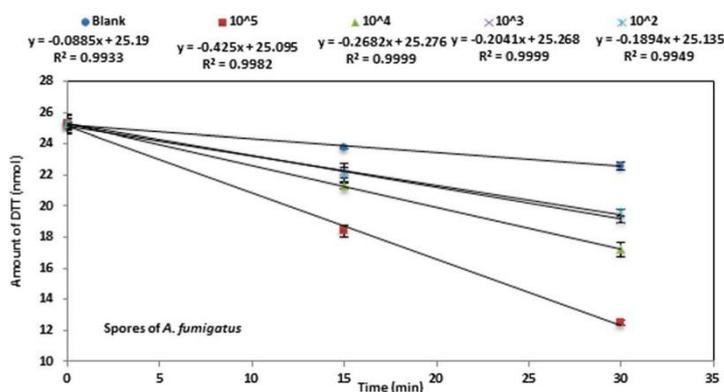


Figure 5. Kinetics of DTT consumption by the model bioaerosols (case of *A. fumigatus*). Each data point is the average of triplicate measurements. Error bars represent the standard deviation calculated with triplicates (when not visible, they are smaller than symbols).

by calculating the coefficient of variability (CV) between triplicates. The calculated CV were always lower than 5%. The rate of DTT loss, which indicates the ability of model bioaerosols to produce ROS, was determined from the slope of the linear regression of DTT remaining amount vs time, as shown in Fig. 5 (each time point was calculated as average \pm standard deviation). The rate of DTT depletion was measured under conditions ensuring linearity of this rate, i.e. when less than 30% of initial DTT amount is depleted. The amount of remaining DTT was obtained from equation (1):

$$N_{DTT} = \frac{N_0 \times Abs_t}{Abs_0} \quad (1)$$

where N_{DTT} indicates the amount of DTT at time t (nmol), N_0 is the amount of DTT (expressed in nmol) at time $t = 0$, Abs_0 is the absorbance corresponding to the initial amount and Abs_t is the absorbance measured at time t .

The intrinsic rate of DTT loss for all samples was calculated by subtracting blank values (or negative controls) from each sample value within the same experiment.

The rate of DTT depletion is assessed in presence of increasing realistic environmental concentrations of bioaerosols. Tested concentrations ranged from 10^2 to 10^5 microorganisms/ml. Such concentrations could correspond to the exposure levels currently observed in both indoor or outdoor and occupational backgrounds (e.g. composting facilities). Table 1 indicates either the tested concentrations of model bioaerosols expressed in microorganisms. ml^{-1} and corresponding values in microorganisms per cubic meter of inhaled air. This conversion was performed with the following equation:

$$Nb/m^3 = \frac{(Nb/mL) \times 20 \text{ ml}}{11 \text{ m}^3} \quad (2)$$

where Nb/m^3 is the concentration of viable microorganisms in air (microorganisms. m^{-3}); Nb/mL is the concentration of microorganisms in liquids (microorganisms. ml^{-1}); 20 ml is the estimated volume of lung fluid and 11 m^3 is the volume of inhaled air within a 24 h, by an adult human³⁰. To simplify the calculation, we assumed that inhaled microorganisms remain into the lung fluid for 24 h, are viable and fully transferred to the deep lungs.

Statistical analysis. Differences between the rate of DTT loss from single mixture of PM components (e.g. Cu, NQ, model bioaerosols) and those calculated as the sum of individual rates were analyzed with the non-parametric Wilcoxon rank-sum test. This non-parametric method was chosen because of the small sample size ($n = 3$). Statistical differences are indicated with asterisks ($p \leq 0.1$).

References

- Putaud, J.-P. *et al.* A European aerosol phenomenology 2: chemical characteristics of particulate matter at kerbside, urban, rural and background sites in Europe. *Atmos. Environ.* **38**, 2579–2595 (2004).
- Bertolini, V. *et al.* Temporal variability and effect of environmental variables on airborne bacterial communities in an urban area of Northern Italy. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97**, 6561–6570 (2013).
- Douwes, J., Thorne, P., Pearce, N. & Heederik, D. Bioaerosol Health Effects and Exposure Assessment: Progress and Prospects. *Ann. Occup. Hyg.* **47**, 187–200 (2003).
- Eduard, W., Heederik, D., Duchaine, C. & Green, B. J. Bioaerosol exposure assessment in the workplace: the past, present and recent advances. *J. Environ. Monit.* **14**, 334 (2012).
- Perrone, M. G. *et al.* Seasonal variations in chemical composition and *in vitro* biological effects of fine PM from Milan. *Chemosphere* **78**, 1368–1377 (2010).
- Donaldson, K. & Tran, C. L. Inflammation cause by particles and fibers. *Inhal. Toxicol.* **14**, 5–27 (2002).
- Uzu, G. *et al.* *In vitro* Assessment of the Pulmonary Toxicity and Gastric Availability of Lead-Rich Particles from a Lead Recycling Plant. *Environ. Sci. Technol.* **45**, 7888–7895 (2011).

8. Perrone, M. G. *et al.* Particle size, chemical composition, seasons of the year and urban, rural or remote site origins as determinants of biological effects of particulate matter on pulmonary cells. *Environ. Pollut.* **176**, 215–227 (2013).
9. Li, N. *et al.* Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environ. Health Perspect.* **111**, 455–460 (2003).
10. Cho, A. K. *et al.* Redox activity of airborne particulate matter at different sites in the Los Angeles Basin. *Environ. Res.* **99**, 40–47 (2005).
11. Li, Q., Wyatt, A. & Kamens, R. M. Oxidant generation and toxicity enhancement of aged-diesel exhaust. *Atmos. Environ.* **43**, 1037–1042 (2009).
12. Charrier, J. G. *et al.* Oxidant production from source-oriented particulate matter-Part I: Oxidative potential using the dithiothreitol (DTT) assay. *Atmospheric Chem. Phys.* **15**, 2327–2340 (2015).
13. Jaenicke, R. Abundance of Cellular Material and Proteins in the Atmosphere. *Science* **308**, 73–73 (2005).
14. Després, V. R. *et al.* Primary biological aerosol particles in the atmosphere: a review. *Tellus B* **64**, (2012).
15. Fröhlich-Nowoisky, J. *et al.* Bioaerosols in the Earth system: Climate, health, and ecosystem interactions. *Atmospheric Res.* **182**, 346–376 (2016).
16. Morris, C. E. *et al.* Microbiology and atmospheric processes: research challenges concerning the impact of airborne microorganisms on the atmosphere and climate. *Biogeosciences* **8**, 17–25 (2011).
17. Mancinelli, R. L. & Shulls, W. A. Airborne bacteria in an urban environment. *Appl. Environ. Microbiol.* **35**, 1095–1101 (1978).
18. Pastuszka, J. S., Paw, U. K. T., Lis, D. O., Wlazło, A. & Ulfig, K. Bacterial and fungal aerosol in indoor environment in Upper Silesia, Poland. *Atmos. Environ.* **34**, 3833–3842 (2000).
19. Lee, T. *et al.* Culturability and concentration of indoor and outdoor airborne fungi in six single-family homes. *Atmos. Environ.* **40**, 2902–2910 (2006).
20. Reinthaler, F. F. *et al.* The assessment of airborne microorganisms in large-scale composting facilities and their immediate surroundings. *Aerobiologia* **13**, 167–175 (1997).
21. Mandal, J. & Brandl, H. Bioaerosols in indoor environment-a review with special reference to residential and occupational locations. *Open Environ. Biol. Monit. J.* **4**, 83–96 (2011).
22. Pearson, C. *et al.* Exposures and Health Outcomes in Relation to Bioaerosol Emissions from Composting Facilities: A Systematic Review of Occupational and Community Studies. *J. Toxicol. Environ. Health Part B* **18**, 43–69 (2015).
23. Górny, R. L. & Dutkiewicz, J. Bacterial and fungal aerosols in indoor environment in Central and Eastern European countries. *Ann Agric. Environ. Med.* **9**, 17–23 (2002).
24. Manninen, H. E. *et al.* Patterns in airborne pollen and other primary biological aerosol particles (PBAP), and their contribution to aerosol mass and number in a boreal forest. *Boreal Environ. Res.* 383–405 (2014).
25. Ghosh, B., Lal, H. & Srivastava, A. Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms. *Environ. Int.* **85**, 254–272 (2015).
26. Heo, Y. *et al.* Size-resolved culturable airborne bacteria sampled in rice field, sanitary landfill, and waste incineration sites. *J. Environ. Monit.* **12**, 1619 (2010).
27. WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mould. (WHO, 2009).
28. Wilson, S. C. *et al.* Airborne Microbial Flora in a Cattle Feedlot. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 3238–3242 (2002).
29. Lacey, J. & Dutkiewicz, J. Bioaerosols and occupational lung disease. *J. Aerosol Sci.* **25**, 1371–1404 (1994).
30. Chen, X. Concentrations and Size Distributions of Airborne Microorganisms in Guangzhou during Summer. *Aerosol Air Qual. Res.* **12**, 13136–1344 (2012).
31. Spilak, M. P. *et al.* Impact of dwelling characteristics on concentrations of bacteria, fungi, endotoxin and total inflammatory potential in settled dust. *Build. Environ.* **93**, 64–71 (2015).
32. Sharpe, R. A., Bearman, N., Thornton, C. R., Husk, K. & Osborne, N. J. Indoor fungal diversity and asthma: A meta-analysis and systematic review of risk factors. *J. Allergy Clin. Immunol.* **135**, 110–122 (2015).
33. Burshtein, N., Lang-Yona, N. & Rudich, Y. Ergosterol, arabilol and mannitol as tracers for biogenic aerosols in the eastern Mediterranean. *Atmospheric Chem. Phys.* **11**, 829–839 (2011).
34. Charrier, J. G. & Anastasio, C. On dithiothreitol (DTT) as a measure of oxidative potential for ambient particles: evidence for the importance of soluble transition metals. *Atmospheric Chem. Phys.* **12**, 11317–11350 (2012).
35. Vaitilingom, M. *et al.* Atmospheric chemistry of carboxylic acids: microbial implication versus photochemistry. *Atmospheric Chem. Phys.* **11**, 8721–8733 (2011).
36. Vaitilingom, M. *et al.* Potential impact of microbial activity on the oxidant capacity and organic carbon budget in clouds. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, 559–564 (2013).
37. Charrier, J. G. & Anastasio, C. Rates of Hydroxyl Radical Production from Transition Metals and Quinones in a Surrogate Lung Fluid. *Environ. Sci. Technol.* **49**, 9317–9325 (2015).
38. Kramer, A. J. *et al.* Assessing the oxidative potential of isoprene-derived epoxides and secondary organic aerosol. *Atmos. Environ.* **130**, 211–218 (2016).
39. Shahan, T. A., Sorenson, W. G., Paulauskis, J. D., Morey, R. & Lewis, D. M. Concentration- and time-dependent upregulation and release of the cytokines MIP-2, KC, TNF, and MIP-1 α in rat alveolar macrophages by fungal spores implicated in airway inflammation. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **18**, 435–440 (1998).
40. Eduard, W. 139. *Fungal spores.* (National Institute for Working Life, 2007).
41. Timm, M., Madsen, A. M., Hansen, J. V., Moesby, L. & Hansen, E. W. Assessment of the Total Inflammatory Potential of Bioaerosols by Using a Granulocyte Assay. *Appl. Environ. Microbiol.* **75**, 7655–7662 (2009).
42. Madsen, A. M. *et al.* Sampling, extraction and measurement of bacteria, endotoxin, fungi and inflammatory potential of settling indoor dust. *J. Environ. Monit.* **14**, 3230 (2012).
43. Rao, C. Y., Burge, H. A. & Chang, J. C. Review of quantitative standards and guidelines for fungi in indoor air. *J. Air Waste Manag. Assoc.* **46**, 899–908 (1996).
44. Górny, R., Cyprowski, M., Ławniczek-Walczyk, A., Gołofit-Szymczak, M. & Zapór, L. Biohazards in the indoor environment—a role for threshold limit values in exposure assessment. *Manag. Indoor Air Qual. Lond. Taylor Francis Group* 1–20 (2011).
45. Fein, J. B., Daughney, C. J., Yee, N. & Davis, T. A. A chemical equilibrium model for metal adsorption onto bacterial surfaces. *Geochim. Cosmochim. Acta* **61**, 3319–3328 (1997).
46. Guiné, V., Martins, J. M. F. & Gaudet, J. Facilitated transport of heavy metals by bacterial colloids in sand columns. In **107**, 593–596 (EDP sciences, 2003).
47. Guiné, V. & Martins, J. M. F. Zinc sorption to three gram-negative bacteria: combined titration, modeling, and EXAFS study. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 1806–1813 (2006).
48. Desaunay, A. & Martins, J. M. F. A physical cell-fractionation approach to assess the surface adsorption and internalization of cadmium by *Curpriavidus metallidurans* CH34. *J. Haz. Mat.* **273**, 231 (2014).
49. Sarewicz, M. & Osyczka, A. Electronic Connection Between the Quinone and Cytochrome c Redox Pools and Its Role in Regulation of Mitochondrial Electron Transport and Redox Signaling. *Physiol. Rev.* **95**, 219–243 (2014).
50. Söderhäll, J. A. & Laaksonen, A. Molecular Dynamics Simulations of Ubiquinone inside a Lipid Bilayer. *J. Phys. Chem. B* **105**, 9308–9315 (2001).
51. Schoepp-Cothenet, B. *et al.* Menaquinone as pool quinone in a purple bacterium. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **106**, 8549–8554 (2009).

52. Hohl, T. M. *et al.* Aspergillus fumigatus Triggers Inflammatory Responses by Stage-Specific β -Glucan Display. *PLoS Pathog.* **1**, (2005).
53. Cooley, J. D. *et al.* An animal model for allergic penicilliosis induced by the intranasal instillation of viable *Penicillium chrysogenum* conidia. *Thorax* **55**, 489–496 (2000).
54. Cooley, J. D., Wong, W. C., Jumper, C. A. & Straus, D. C. Fungi and the Indoor Environment: Their Impact on Human Health. in *Advances in Applied Microbiology* Volume **55**, 1–30 (Academic Press, 2004).
55. Templeton, S. P., Buskirk, A. D., Green, B. J., Beezhold, D. H. & Schmechel, D. Murine models of airway fungal exposure and allergic sensitization. *Med. Mycol.* **48**, 217–228 (2010).
56. Bezerra, G. F. & de, B. *et al.* Diversity and dynamics of airborne fungi in Sao Luis, State of Maranhao, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **47**, 69–73 (2014).
57. Fröhlich-Nowoisky, J., Pickersgill, D. A., Després, V. R. & Pöschl, U. High diversity of fungi in air particulate matter. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **106**, 12814–12819 (2009).
58. Sudakin, D. Trichothecenes in the environment: relevance to human health. *Toxicol. Lett.* **143**, 97–107 (2003).
59. Andersen, A. A. New sampler for the collection, sizing and enumeration of viable airborne particles. *J. Bacteriol.* **76**, 471–484 (1958).
60. Jocteur Monrozier, L. *et al.* Distribution of microorganisms and fate of xenobiotic molecules in unsaturated soil environments. *Sci. Total Environ.* **136**, 121–133 (1993).
61. Pollution atmosphérique. DECOMBIO - Contribution de la combustion de la biomasse aux PM10 en vallée de l'Arve: mise en place et qualification d'un dispositif de suivi. Available at: <http://lodel.revues.inist.fr/pollution-atmosphérique/index.php?id=5952>. (Accessed: 3rd January 2017)
62. Verma, V. *et al.* Reactive oxygen species associated with water-soluble PM2.5 in the southeastern United States: spatiotemporal trends and source apportionment. *Atmospheric Chem. Phys.* **14**, 12915–12930 (2014).
63. Fang, T. *et al.* A semi-automated system for quantifying the oxidative potential of ambient particles in aqueous extracts using the dithiothreitol (DTT) assay: results from the Southeastern Center for Air Pollution and Epidemiology (SCAPE). *Atmospheric Meas. Tech. Discuss.* **7**, 7245–7279 (2014).

Acknowledgements

The authors kindly thank Melinda Roesnich from Chicago for her English edits and Mathieu Boidot for R software support. LEFE-CHAT/EC2CO-Microbien CAREMBIOS program and LABEX OSUG@2020 (ANR-10-LABX-56) are gratefully acknowledged for funding. Analytical aspects were supported by MOME and AirSolEau platforms.

Author Contributions

G.U., A.S., J.M.F., J.L.J. and S.P. conceived and designed the study. A.S., A.C. and E.V. performed experiments. G.U., A.S., J.M.F., S.P. and J.L.J. analyzed the data and wrote the manuscript. All authors reviewed and commented on the manuscript.

Additional Information

Supplementary information accompanies this paper at doi:10.1038/s41598-017-11178-0

Competing Interests: The authors declare that they have no competing interests.

Publisher's note: Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

 **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2017

Supporting information

https://static-content.springer.com/esm/art%3A10.1038%2Fs41598-017-11178-0/MediaObjects/41598_2017_11178_MOESM1_ESM.pdf

Supporting information for: The unexpected role of bioaerosols in the Oxidative Potential of PM

A. Samake¹, G. Uzu^{1*}, J. M. F. Martins¹, A. Calas¹, E. Vince¹, S. Parat² and J. L. Jaffrezo¹

¹ Univ. Grenoble Alpes, CNRS, IRD, IGE (UMR 5001), F-38000 Grenoble, France.

²Air et Bio, F-73 000 Chambéry, France

* Corresponding author: gaelle.uzu@ird.fr

This file contains 12 slides, including this one.

Figures S1;S2, S4, S6, S8 are additional graphics.

Figures S4, S9 are additional optical microscopic images.

Figure S7 is a pattern.

Figure S10 are microorganism viability tests.

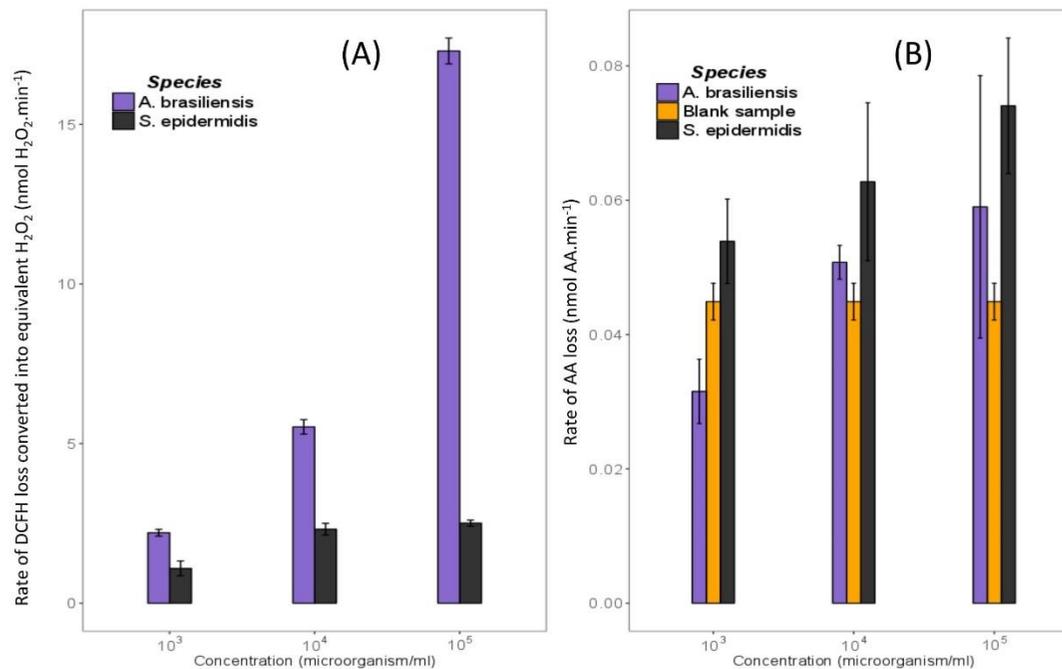


Figure S1: Intrinsic oxidative reactivity of *A. brasiliensis* spores and *S. epidermidis* bacterial cells at increasing concentration, evaluated with: (A) Dichlorofluorescein diacetate (DCFH) and (B) Ascorbic acid cell free assays respectively. Error bars are standard deviation between triplicates of measurements.

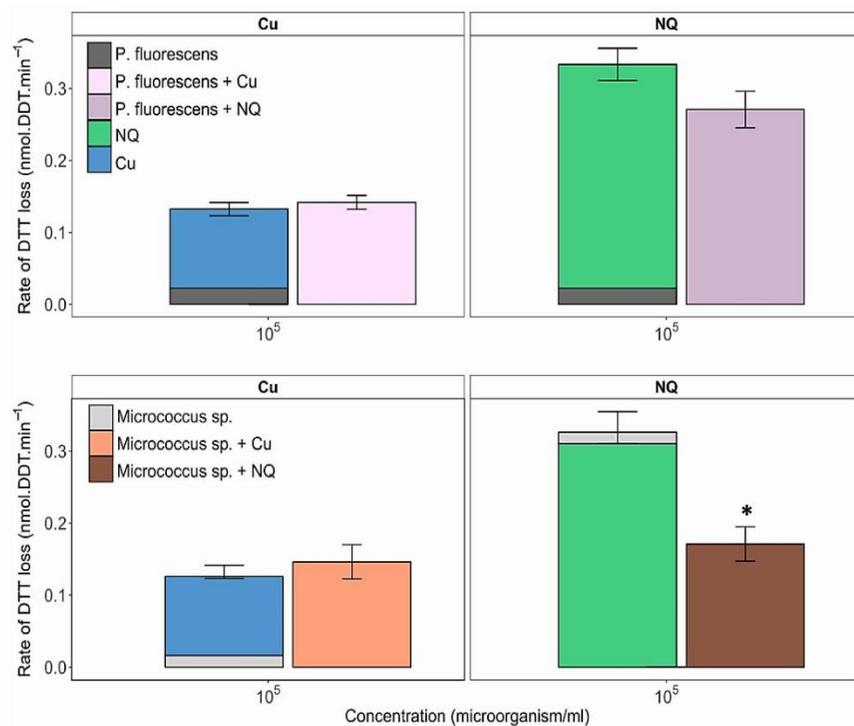


Figure S2: Oxidative reactivity of copper (Cu) and 1,4-naphthoquinone (NQ) in the presence of 10^5 *P. fluorescens*/or *Micrococcus sp.* bacterial cells, assessed with DTT cell-free assay. Error bars are standard deviation between triplicates of measurements. Asterisks indicate significant difference between the measured and the individual sum of DTT depletion rate ($n=3$, Wilcoxon rank-sum test, $p \leq 0.1$).

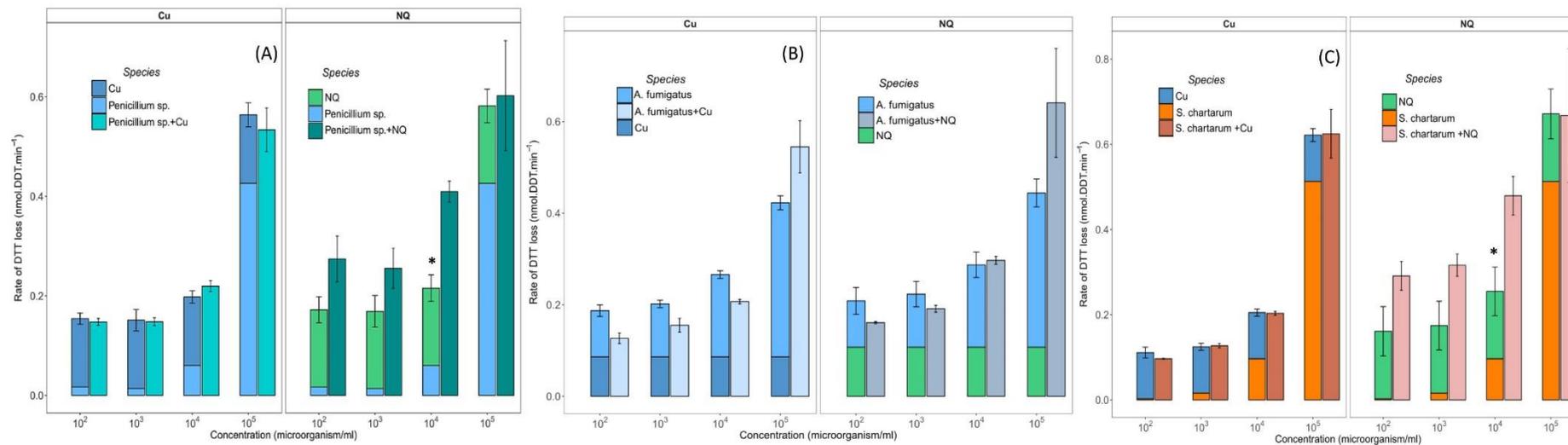


Figure S3: Evolution of intrinsic oxidative reactivity of copper and (Cu) and 1,4-napthoquinone (NQ) in the presence of increasing concentrations of: (A) Spores of *Penicillium sp.*, (B) Spores of *A. fumigatus* and (C) Spores of *S. chartarum*. Oxidative reactivity has been evaluated with DTT cell-free assay. Error bars indicate standard deviation between triplicates of measurements. Asterisks underline cases where the measured and that calculated as the sum of individual rate of DTT loss are significantly different ($n=3$, Wilcoxon rank-sum test, $p \leq 0.1$).

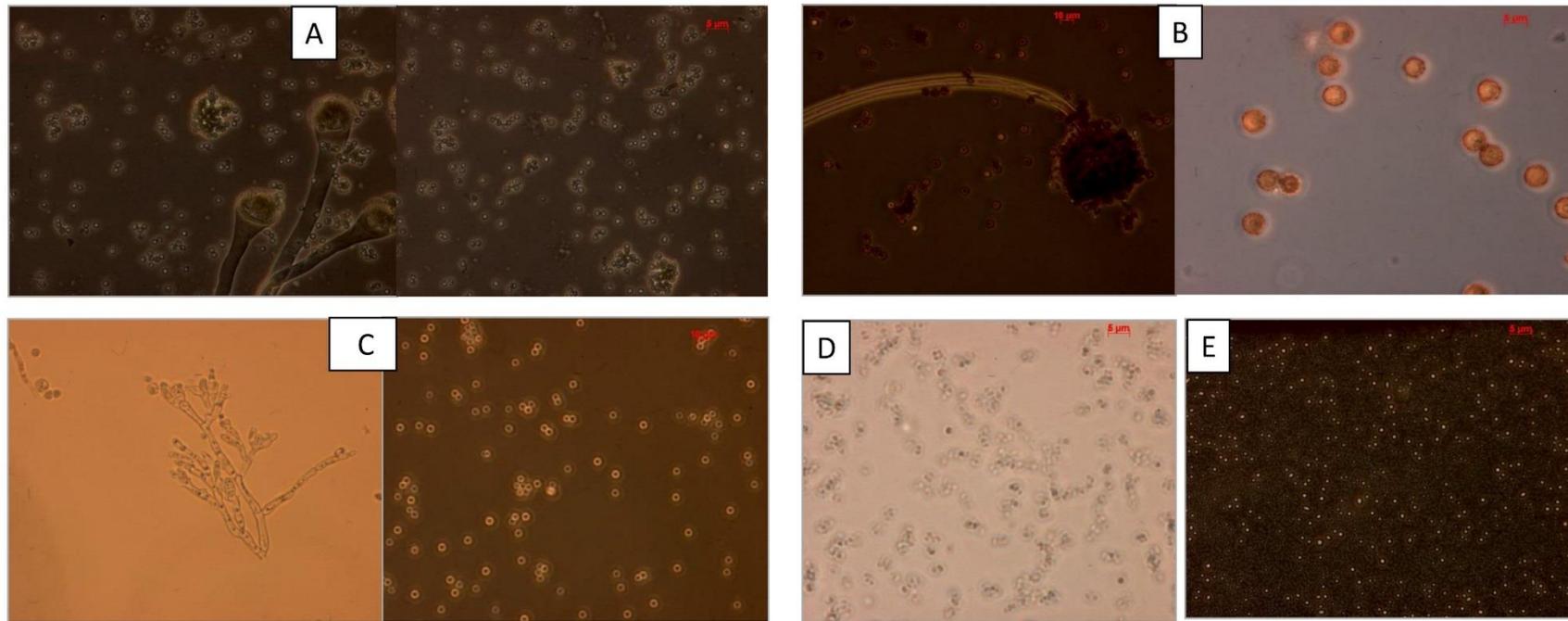


Figure S4: Optical microscopic images of gamma-rays inactivated microorganisms: (A)= *A. fumigatus*, (B)= *A. brasiliensis*, (C)= *Penicillium sp.*; (D)= *Micrococcus sp.*; (E)= *S. epidermidis*,

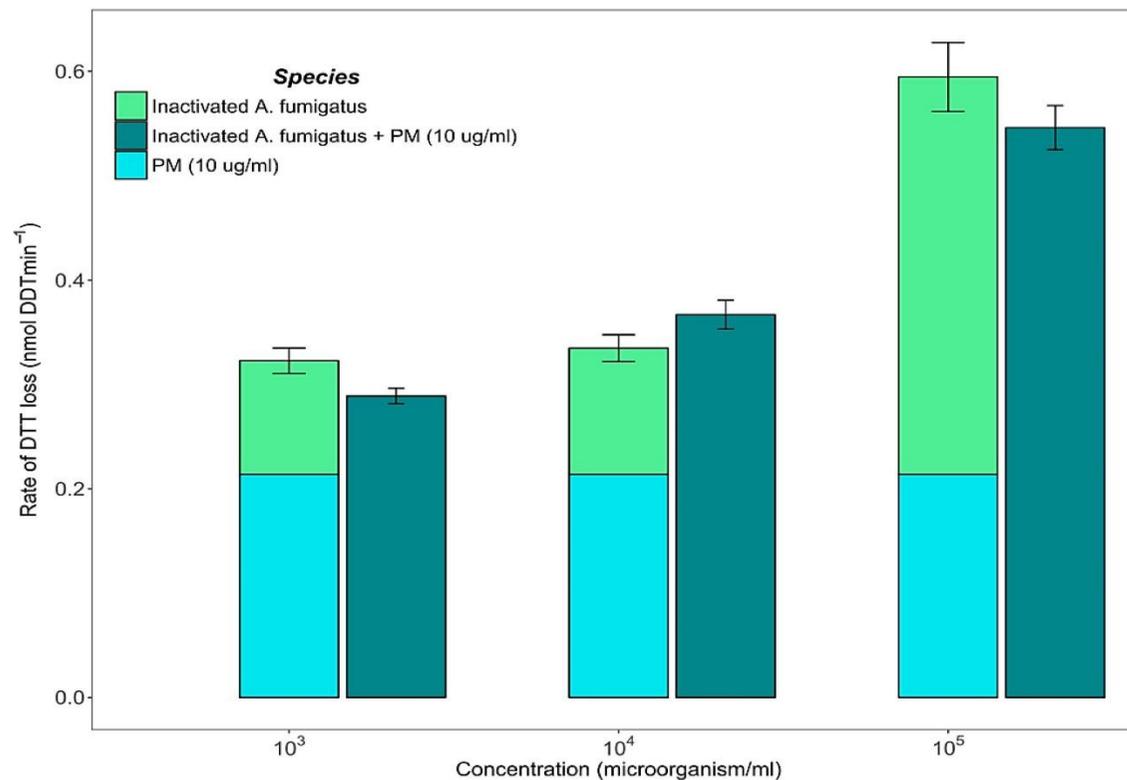


Figure S5: Rate of DTT depletion by a single mixture of gamma-rays inactivated *A. fumigatus* spores and ambient PM collected in Toulouse (subway station) compared to that calculated as sum of individual oxidative reactivity. Statistical differences between measured and calculated rate of DTT loss were analyzed with Wilcoxon rank-sum test ($n=3$, $p \leq 0.1$). Error bars are standard deviation between triplicates of measurements.

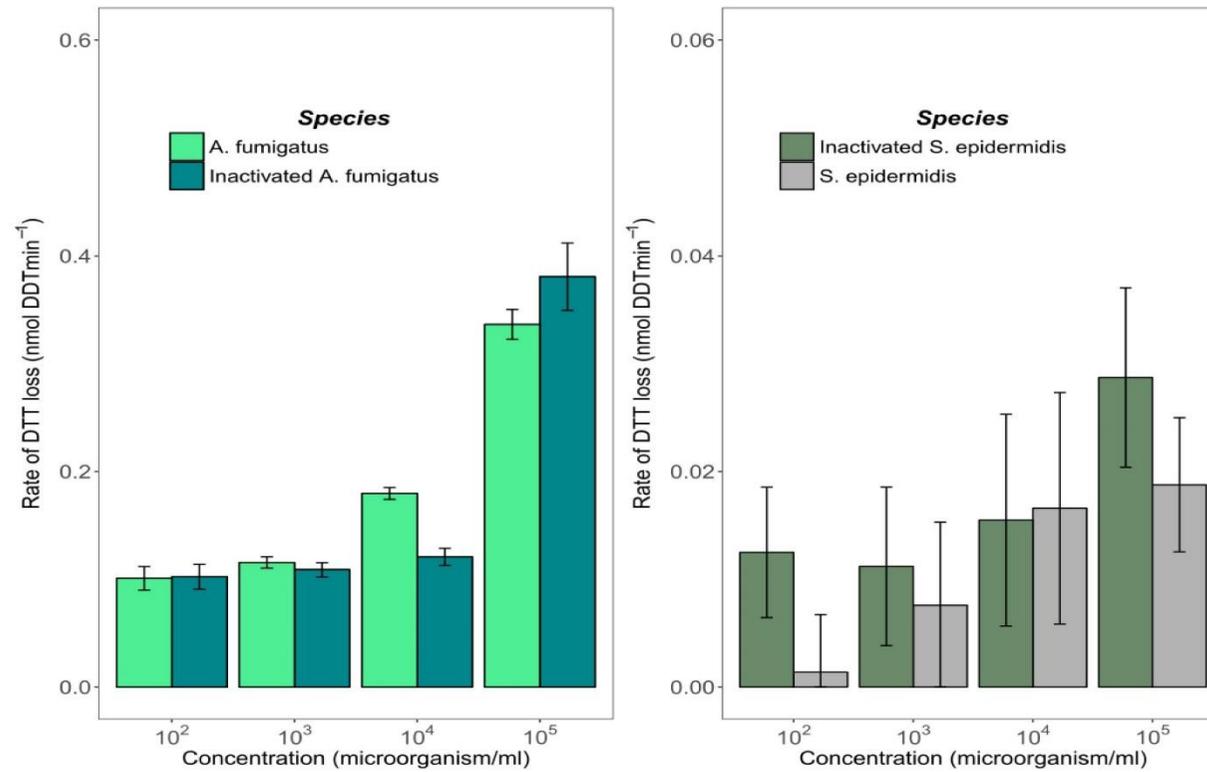


Figure S6: Rate of DTT depletion from viable microorganisms compared to that from gamma-rays inactivated ones. Statistical difference are underlined with asterisks different (n=3, Wilcoxon rank-sum test, p≤ 0.1 Error bars are standard deviation between triplicates of measurements).

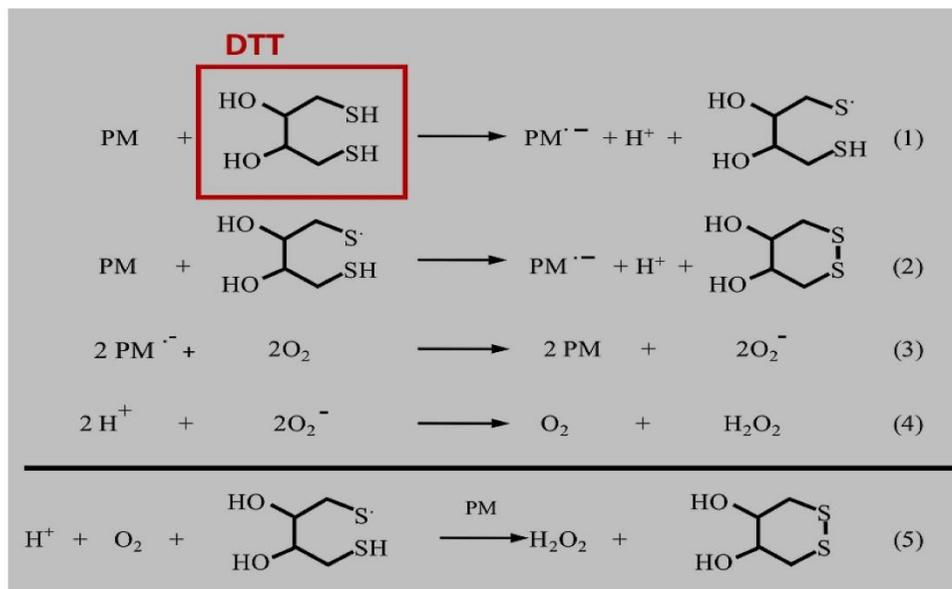


Figure S7: Chemical basis of DTT oxidation by redox-active contents of PM (adapted from Rattanavaraha et al., 2011 and therein references)

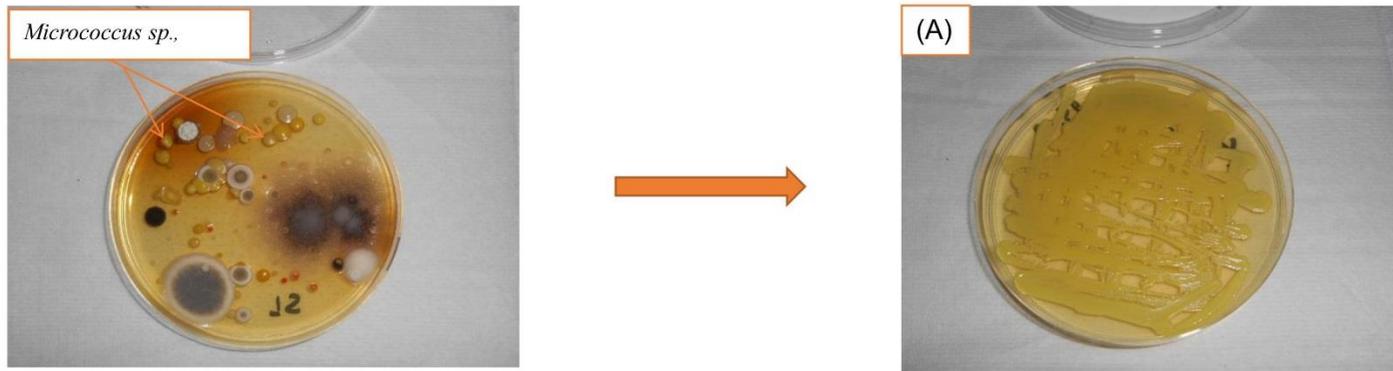


Figure S8A: Growth of bacteria cells collected onto Trypticase soy agar culture medium and specific subculture of identified *Micrococcus sp.*, bacterial cells onto Luria-Bertani agar culture medium (A).

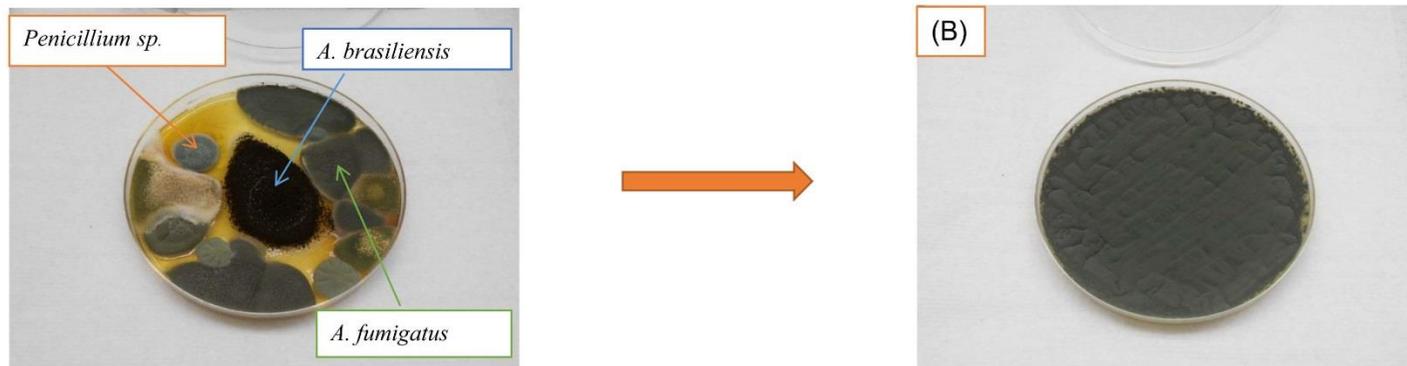


Figure S8B: Growth of Fungal spores collected onto Malt Agar culture medium (MA) and specific subculture of identified *A. fumigatus* spores onto MA (B).

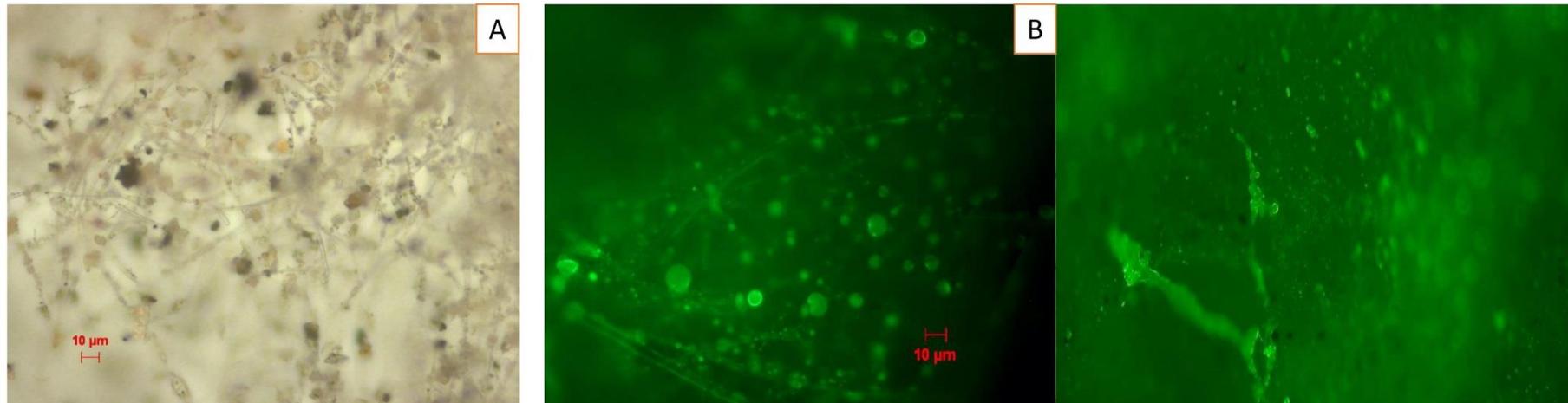
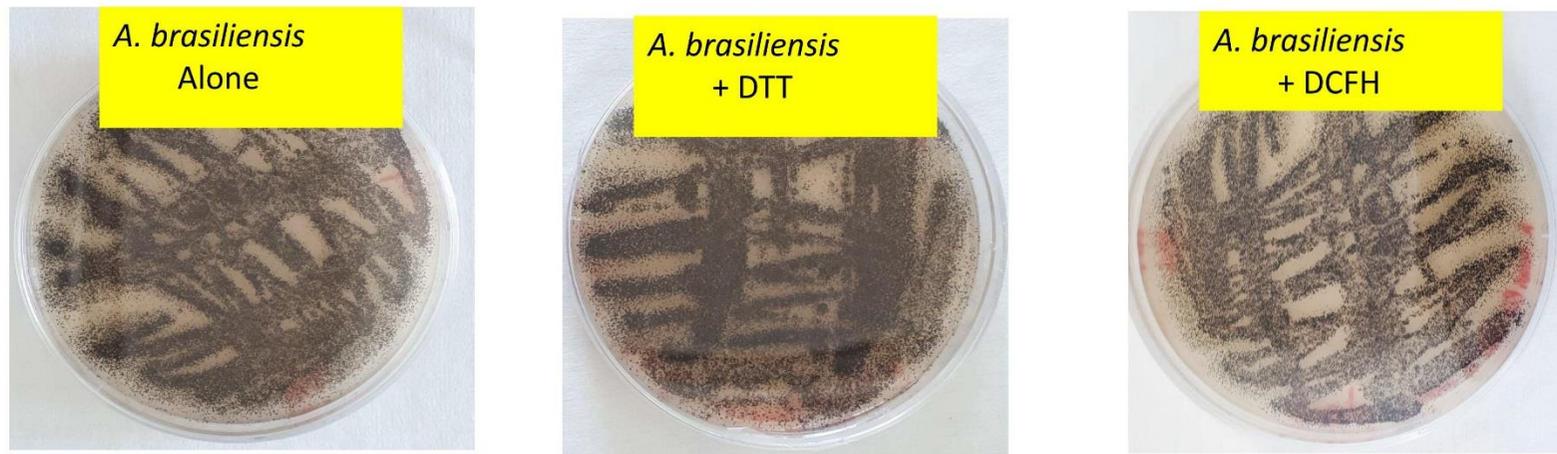
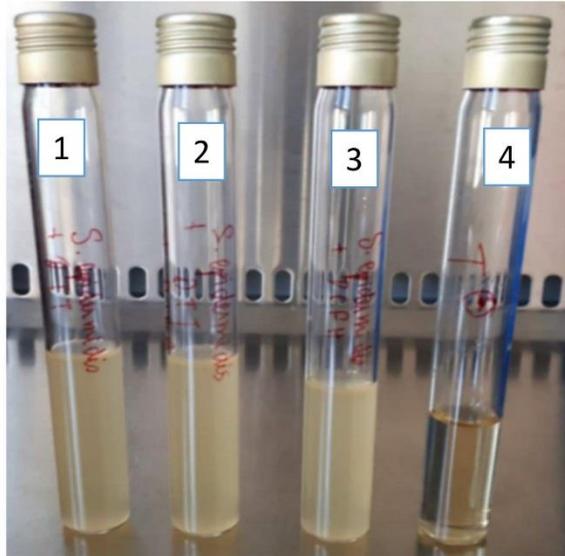


Figure S9: Optical microscopic examination of ambient particulate matter (PM) collected in Passy (Vallée de l'Arve, France). (A) shows the total content of real ambient PM whereas (B) provides a specific revelation of biological fraction of PM. DNA was colored with the SYTO® 9 fluorescent dye.



Identifiant	<i>A. brasiliensis</i> alone	<i>A. brasiliensis</i> + DTT	<i>A. brasiliensis</i> + DCFH
Spores/ml	$6,50 \cdot 10^6$	$6,84 \cdot 10^6$	$5,57 \cdot 10^6$

Figure S 10A: Growth of *A. brasiliensis* spores incubated together or not with DTT/or DCFH onto Malt Agar culture medium (MA), concentration was obtained by gently scrapping spores into a sterile water resuspension followed by microscopic count.



Identifiant	1	2	3	4
OD (550 nm)	1,283	1,305	1,422	0

Figure S 10B: Growth of *S. epidermidis* cells incubated together or with DTT/or DTT+DTNB/ or DCFH into Luria Bertani liquid (LB) culture medium: (1) *S. epidermidis* +DTT; (2) *S. epidermidis* +DTT+ DTNB; (3) *S. epidermidis* +DCFH-DA and (4) Negative control (LB without any cells). The Growth rate was determined by spectrophotometry (optical density (OD)) at 550 nm.

References used in the supplemental information.

1. Rattanavaraha, W. *et al.* The reactive oxidant potential of different types of aged atmospheric particles: An outdoor chamber study. *Atmos. Environ.* **45**, 3848–3855 (2011).

Conclusions générales et perspectives

La matière organique particulaire (MO) représente généralement la première composante en masse des aérosols. Elle fait aujourd'hui l'objet d'une attention particulière de la part de la communauté de (géo)chimie atmosphérique en raison de ses effets sur la santé, le climat, et l'environnement. De fortes incertitudes subsistent, néanmoins sur ces impacts à cause de notre capacité limitée à prédire et quantifier la MO ambiante dans sa globalité (Fuzzi et al., 2015; Yttri et al., 2009). Ces limitations sont très certainement liées en partie à nos connaissances encore limitées sur les aérosols organiques d'origine biogénique primaire (PBOA), les sources et processus dominants conduisant à leur introduction dans l'atmosphère, les quantités totales de PBOA présentes dans l'air, l'influence des conditions environnementales sur les variabilités spatiotemporelles de leurs concentrations, et finalement sur leurs interactions complexes avec la composition chimique des PM (Bozzetti et al., 2016; Coz et al., 2010; Zhang et al., 2011). Une meilleure compréhension de ces phénomènes apparaît donc essentielle pour l'amélioration des outils de modélisation ainsi que pour l'élaboration de politiques publiques en faveur d'une meilleure qualité de l'air.

Dans ce contexte, l'objectif principal de ce travail de thèse était de développer nos connaissances sur les sources et de la dynamique des sucres primaires particuliers atmosphériques pour mieux appréhender et quantifier les PBOAs en France. Le second objectif de ce travail était d'évaluer le potentiel oxydatif (PO) intrinsèque des particules organiques d'origine biogénique primaire ainsi que leur importance relative sur le potentiel oxydant (PO) global des aérosols. A notre connaissance, il s'agit de la première étude considérant cette caractéristique dans les études de PO des aérosols.

Pour répondre à ces deux principaux objectifs, ce projet interdisciplinaire s'est reposé sur deux approches complémentaires, qui impliquaient dans une première phase, l'exploitation statistique de l'une des plus grandes bases de données existantes sur la caractérisation chimique des sucres primaires particuliers ainsi que sur la quantification des sources d'émission de PM collectées sur des sites d'étude de typologies diversifiées et répartis sur l'ensemble du territoire national français (cf. Chapitre 2). Grâce à ces jeux uniques de données, nous avons pu étudier les dynamiques temporelles et spatiales associées aux sucres primaires et aux PBOAs ambiants, en utilisant de plusieurs méthodologies statistiques (cf. Chapitres 2, 3 et 4). Cela était un préalable indispensable pour identifier la période la plus favorable pour l'étude spécifique des communautés microbiennes associées aux sucres primaires, traceurs de PBOA. Deux campagnes annuelles de terrain ont ainsi pu être planifiées et menées lors des périodes d'été 2017 et 2018, sur des sites contrastés en termes de typologies, conditions climatiques, géographiques et couverture de sols. Les échantillons collectés ont été analysés en utilisant un large parc analytique permettant leur caractérisation détaillée en termes de composition chimique (fraction carbonée, sucres primaires, cellulose, sucres anhydres, ions, métaux, éléments traces, etc.) et microbiologiques (composition taxonomique en bactéries et champignons). L'étude des communautés microbiennes atmosphériques a nécessité la mise au point sur près de 6 mois d'un protocole de biologie moléculaire adapté à des échantillons contenant peu de matériel génétique (ADN génomique fongique et bactérien) et particulièrement sensibles aux contaminations. Nous avons ainsi réussi à mettre au point

un protocole permettant d'extraire de l'ADN généomique en quantité et qualité suffisantes pour permettre son séquençage à haut débit par une approche de metabarcoding.

Pour mieux rendre compte des travaux interdisciplinaires complémentaires réalisés dans cette thèse pour mieux appréhender les PBOAs, nous avons décidé de synthétiser les principales avancées de ce travail de thèse selon trois volets, chacun comportant une ouverture sur des perspectives scientifiques envisageables, voire déjà en cours.

1 Base de données sur la spéciation chimique et la caractérisation des sources de PM

Dans les chapitres 3 et 4, nous nous sommes intéressés dans un premier temps aux évolutions des concentrations atmosphériques en sucres primaires dans les fractions $PM_{2.5}$ et PM_{10} à différentes résolutions temporelles (journalières, mensuelles, saisonnières et annuelles) et spatiales (locales, régionales et nationales). Nous avons pu montrer que les concentrations atmosphériques en sucres primaires, traceurs moléculaires de PBOAs, présentent une saisonnalité bien marquée en France. En effet, des maxima atmosphériques en sucres primaires particuliers ont été observés en fin de printemps jusqu'au début de l'automne, suivis d'une baisse drastique en fin d'automne et des minima atmosphériques marqués pendant la période hivernale. Nous avons également vu que les sucres primaires particuliers sont prépondérants dans la fraction grossière des aérosols (PM_{10}). Au regard du spectre de tailles des particules biologiques atmosphériques (cf. Chapitre 1), qui sont généralement localisées dans les PM_{10} (Zhang et al., 2010; Zhu et al., 2018), ces résultats suggèrent que les variabilités temporelles des concentrations atmosphériques en sucres primaires sont très certainement dues aux fortes activités métaboliques biologiques pendant les périodes estivales.

Nos résultats ont également permis de mettre en évidence une similitude entre les évolutions temporelles de concentrations et de ratios entre sucres primaires pour des sites localisés dans une même région géographique (jusqu'à une distance inter-sites d'environ 200 km). Ces observations indiquent que la source PBOA est très homogène spatialement sur des distances cohérentes avec celles de grands types d'écosystèmes. Pour les sites qui ne sont pas directement influencés par les activités agricoles, nos résultats ont clairement mis évidence que les évolutions temporelles des concentrations atmosphériques en sucres primaires dans les PM_{10} sont déterminées par des facteurs environnementaux régionaux dont la température, l'humidité relative ou encore la densité et/ou le type de végétation. Enfin, pour un site directement influencé par les activités agricoles, les pics de concentration de sucres primaires particuliers ont seulement été mis en évidence de façon extrêmement concomitante avec les moissons des cultures autour du site d'étude. Ces dernières observations indiquent que ces maxima de concentrations sont principalement liés aux microorganismes endophytes et épiphytes hébergés dans les plantes, et non pas directement à la remise en suspension de la flore tellurique dans l'air, comme généralement suggéré dans la littérature (cf. Chapitre 4).

Dans un second temps, nous avons évalué l'importance massique des PBOAs dans les PM. Ainsi, une première approche « simplifiée » de type monotracteur sur des sites de fond rural nationaux a permis de mettre en évidence que les PBOAs constituent une source significative de $PM_{2.5}$ en période estivale, représentant en moyenne environ 4.5 à 9.5% de la masse de l'OC sur ces sites. Ce premier

constat nous a incités à affiner l'estimation de leurs contributions et à établir un profil chimique robuste associé aux PBOAs dans la fraction grossière PM₁₀. Ceci a été réalisé en se basant sur une approche de PMF harmonisée pour une analyse homogène des sources de PM₁₀ sur seize sites d'études en France, qui avait été développée dans le cadre de précédents projets (DECOMBIO et SOURCE). Les sites d'études correspondants recouvrent plusieurs régions et conditions climatiques typiques en France, ce qui est essentiel pour fournir des estimations robustes de l'importance massique de la source PBOA sur des sites de typologies variées à l'échelle nationale. Cette analyse a permis de montrer une contribution annuelle moyenne considérable des PBOAs aux PM₁₀ indépendamment de la typologie des sites d'études. Ils présentent des temporalités (saisonniers) qui sont tout à fait cohérentes avec l'augmentation de l'activité biologique en période estivale. Un résultat important de cette étude est qu'à l'échelle de l'année, les PBOAs constituent une fraction importante de la MO puisqu'ils contribuent en moyenne massique à 13 ± 4 % de la MO dans les PM₁₀ en France. En période estivale, cette contribution peut même augmenter jusqu'à 40% de la MO pour certains sites alpins.

Enfin, nos résultats ont également permis de montrer que l'empreinte chimique associée aux PBOAs est largement dominée par la fraction organique (78 ± 9 % en moyenne de la masse du facteur source identifié comme « PBOA » par ces études PMF), avec seulement une contribution mineure des poussières minérales (3.0 ± 1.5 % en moyenne). Ces résultats nous confortent à nouveau dans l'idée que la source PBOA n'est pas directement liée à la remise en suspension de la flore tellurique dans l'air, ce qui est une avancée importante pour la compréhension des processus d'émission en vue de leur modélisation future.

In fine, ces résultats pourraient sans doute ouvrir de nouvelles voies vers une meilleure incorporation des PBOAs dans les modèles de chimie-transport (CTM). A ce stade, ils permettent la comparaison de plusieurs séries annuelles de contributions des PBOAs à la masse de MO avec la part de MO non expliquée par les modèles de CTM. Par ailleurs, les approches statistiques utilisées ont permis de hiérarchiser les facteurs environnementaux (i.e., conditions météorologiques, densité et ou type de végétation, couverture des sols, etc.) qui déterminent les niveaux atmosphériques en sucres primaires dans les PM₁₀ sur quelques sites d'études en France. La généralisation de ces approches à une large gamme de sites représentatives de l'ensemble des conditions climatiques typiques en France pourrait permettre une meilleure paramétrisation des sources de PBOAs dans les modèles CTM.

Les résultats des Chapitres 3 et 4, particulièrement novateurs, ont permis de mieux comprendre les dynamiques spatiotemporelles du PBOA. Toute fois, la source PBOA demeure encore mal caractérisée d'un point de vue chimique car les polyols majoritaires utilisés comme traceurs dans les analyses PMF ne représentent seulement que 3.0 ± 1.5 % de la masse de ce facteur PBOAs en France. Par conséquent, une meilleure caractérisation des autres espèces chimiques co-émises reste nécessaire afin progresser dans la connaissance de la composition chimique des sources de PBOAs. Sur ce point, une méthodologie analytique a très récemment été mise au point à l'IGE afin de permettre l'analyse de la cellulose libre dans les particules atmosphériques. Les premières analyses de séries annuelles d'échantillons montrent que la cellulose libre constitue une fraction significative des PM₁₀, pouvant atteindre 7.5 à 32.4 % de la MO en masse, avec des co-variations marquées de ses concentrations avec celles des sucres primaires. Ainsi, la prise en compte de sa concentration dans des prochaines analyses

PMF devrait donc sans doute permettre d'améliorer la caractérisation de l'empreinte chimique associée aux PBOAs.

Enfin, nous avons pu voir aussi que l'inclusion des concentrations de glucose dans les analyses PMF conduisait à des solutions non stables statistiquement (cf. Chapitre 4). A ce stade, nous ne pouvons pas clairement expliquer cette observation. Des travaux supplémentaires sont encore nécessaires à ce sujet afin de mieux caractériser les sources biogéniques du glucose. A titre d'exemple, Leck and Bigg (2005) ont pu identifier du glucose dans les embruns marins issus de l'océan Arctique pendant la période d'été, suggérant que le glucose pourrait également avoir une origine marine.

2 Caractérisation de l'origine biogénique et de l'empreinte microbiologique atmosphérique associées aux sucres primaires dans les PM₁₀

Les approches interdisciplinaires peuvent grandement participer à une meilleure compréhension des communautés microbiennes atmosphériques qui déterminent les évolutions journalières et les variations spatiales des concentrations atmosphériques en sucres primaires dans les PM₁₀. Ainsi, dans le Chapitre 5, nous nous sommes intéressés dans un premier temps à l'étude des liens entre les évolutions journalières des concentrations atmosphériques primaires et la structure et l'abondance des communautés microbiennes présentes dans les PM₁₀. Nos résultats ont clairement permis de mettre en évidence que les évolutions journalières de ces espèces chimiques sont déterminées par seulement quelques taxons spécifiques présents dans les PM₁₀. La comparaison des résultats de deux campagnes d'échantillonnage menées sur périodes d'été 2017 et 2018 ont permis de montrer la robustesse et la reproductibilité de l'empreinte microbiologique associée aux sucres primaires dans les PM₁₀. Ce travail, résolument interdisciplinaire, est précurseur et représente à notre connaissance une des premières applications des outils de séquençage haut-débit pour comprendre les évolutions temporelles des concentrations atmosphériques en sucres primaires particuliers.

Dans une seconde phase, nous nous sommes intéressés aux liens entre les évolutions journalières des concentrations atmosphériques primaires et la structure et l'abondance de communautés microbiennes dans les PM₁₀ sur trois sites d'études localisés dans des régions (géo)climatiques distinctes en France. Ces résultats, encore en cours d'exploitation, ont déjà permis de montrer que les variations spatiales des concentrations atmosphériques en sucres primaires dans les PM₁₀ sont associées à des microorganismes atmosphériques ayant une distribution et source très localisée d'un point de vue régional.

Ces données ouvrent des perspectives de recherche supplémentaires sur des points qui n'ont pas pu être traités dans le temps imparti pour cette thèse. Ici, malgré le couplage innovant de méthodes analytiques chimiques variées (HPLC-PAD, chromatographie ionique, etc.) avec des techniques de metabarcoding, nous n'avons pas pu déterminer si les concentrations en sucres primaires dans les PM₁₀ sont liées aux émissions directes de microorganismes, comme pendant les processus de sporulations ; ou bien aux sous-produits émis "par" ou "avec" les microorganismes ; ou encore un mélange des deux. Une compréhension plus détaillée de ces processus d'émission est nécessaire pour avancer dans leur paramétrisation et l'incorporation future dans des modèles CTM. Pour ce faire, des

essais sont en cours à l'IGE pour tenter de doser directement les fractions hydrosolubles et totales de sucres primaires contenues dans des microorganismes modèles cultivés au laboratoire sous diverses conditions de stress (carence de nutriments, stress hydrique, variations de température, etc.) et de vieillissement afin de mieux caractériser le profil des sucres primaires produits par des microorganismes en conditions de cultures de croissance. Les espèces modèles utilisées ont été isolés à partir d'échantillons environnementaux. Nous avons décidé de conduire ces essais sur une dizaine de microorganismes modèles en nous basant sur leur abondance atmosphérique et de manière à disposer de représentants des taxons positivement et négativement corrélés aux concentrations de sucres primaires dans les PM₁₀ tel que montré dans le Chapitre 5. Si les résultats sont concluants, ces essais permettront d'intercomparer les ratios entre espèces chimiques dans les PM₁₀ et chacune des deux fractions (i.e. hydrosoluble et totale). En effet, à travers le chapitre 4 de cette thèse, nous avons pu voir que les ratios entre sucres primaires particuliers ambiants indiquent des variabilités spatiales et temporelles non aléatoires. Cette dernière observation pourrait être liée à la façon dont les différentes communautés microbiennes atmosphériques identifiées réagissent aux diverses pressions exercées par les facteurs environnementaux régionaux (Rathnayake et al., 2016; Stępańska and Wołek, 2005).

Par ailleurs, nous avons observé une forte influence des conditions (géo) climatiques régionales sur la structure des communautés microbiennes atmosphériques qui déterminent les évolutions journalières des concentrations atmosphériques en sucres primaires dans les PM₁₀. Dans ce contexte, il semble pertinent de réaliser une étude combinant des approches de metabarcoding et de métabolomique, qui permettraient de caractériser respectivement la biodiversité dans sa globalité et l'empreinte métabolique unique associée aux génotypes mis en évidence lors des processus biologiques au cours du temps. Cela permettrait de mieux appréhender comment des conditions environnementales spécifiques à une région géographique donnée influencent la nature et la quantité de sucres primaires émis par les microorganismes atmosphériques.

3 Contribution des bioaérosols au potentiel oxydatif global des aérosols

Le Potentiel Oxydant des aérosols est une métrique prometteuse d'intérêt sanitaire qui apporte des informations plus complètes que la concentration massique des particules qui sert actuellement à lancer les alertes sanitaires. Dans le Chapitre 6, nous nous sommes attelés à mieux appréhender le rôle de la fraction biologique au PO global des aérosols qui était très peu documenté. Ainsi, le PO de bioaérosols modèles (bactéries et spores fongiques) ubiquitaires dans l'air extérieur et intérieur a été évalué grâce aux tests acellulaires utilisés en routine à l'IGE pour mesurer le PO de particules chimiques. Il s'agissait également d'étudier leurs effets sur PO de PM collectées en conditions réelles (PM atmosphériques) ou sur de composés chimiques modèles (ex., 1,4 naphtoquinone (NQ), cuivre (Cu)) connus pour leur activité redox dans l'atmosphère.

Il a donc fallu dans un premier temps adapter et optimiser ces protocoles afin de pouvoir mesurer la part inhérente aux bioaérosols. Nos résultats ont permis de montrer que tous les bioaérosols modèles testés possèdent chacun un PO intrinsèque, dont l'intensité varie avec la nature des espèces microbiennes et leur concentration. De plus, les spores fongiques ont en moyenne un PO 10 fois plus élevé que les cellules bactériennes testées. Ces résultats montrent comment les bioaérosols sont capables de contribuer

ou de moduler le PO global des PM. Ceci ouvre aussi des perspectives sur la compréhension de la réponse (non)linéaire de certaines composantes chimiques au PO qui pourraient être combinées avec des bioaérosols. Et enfin, ce potentiel oxydant intrinsèque des bioaérosols montre que ces espèces devraient être considérées dans les évaluations des impacts sanitaires et que leurs analyses devraient être systématiques et intégrées aux analyses de contaminants classiques.

Ces résultats ont permis de mettre en évidence que les bioaérosols ont une influence significative sur le PO des PM chimiques modèles ou collectées en conditions réelles. En effet, le PO intrinsèque des spores fongiques testées s'additionne à ceux de composés chimiques modèles et PM atmosphériques. A l'inverse, l'effet des cellules bactériennes sur le PO est contrasté. En effet, si les cellules bactériennes de *P. fluorescens* et *Micrococcus sp.* ont tendance à réduire seulement le PO de la 1,4-naphtoquinone (NQ), celles de *S. epidermidis* réduisent significativement à la fois le PO du Cu et de la NQ, probablement via des mécanismes de complexation des composés générant des ERO, comme le cuivre, par les parois cellulaires, et qui sont de ce fait moins disponibles.

Enfin, nos résultats ont clairement permis de montrer que certains microorganismes présentent un PO intrinsèque important et peu sensible à l'état de viabilité des cellules, puisqu'il reste comparable avant et après inactivation aux rayons gamma. Cela suggère que leur capacité à générer des espèces réactives de l'oxygène passe probablement par un mécanisme de surface, vraisemblablement liée à la paroi cellulaire. Ces résultats ouvrent clairement de nouvelles questions scientifiques. En effet, comme nous l'avons déjà évoqué dans ce manuscrit, les cellules microbiennes contiennent de grandes quantités de polyols, qui sont connus pour leur capacité à neutraliser efficacement les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Jennings et al., 1998; Upadhyay et al., 2015). Nos résultats font ressortir la question des mécanismes moléculaires fins sous-jacents et notamment de savoir quels sont les mécanismes de production d'ERO par les bioaérosols modèles utilisés dans nos tests acellulaires. Est-ce que les polyols contenus dans les microorganismes sont présents au niveau de leur paroi ou dans leur cytosol, et donc non accessibles lors de nos expériences, ou sont-ils sous forme libre/accessible ? Leur mesure dans l'atmosphère découlant d'une extraction aqueuse (avec filtration à 0,22 µm), démontre leur caractère hydrosoluble. Ce dernier point amène donc à des questions sur la disponibilité de ces composés organiques lors des mesures de PO mais aussi sur leur réactivité dans les aérosols.

En dépit des limites mentionnées ci-dessus, l'ensemble de ce travail apporte des résultats originaux qui permettent de progresser significativement l'état des connaissances sur les PBOAs. Les résultats obtenus constituent des arguments pour la prise en compte systématique des PBOAs dans le cadre des études sur les aérosols atmosphériques. Le travail présenté ici a été possible en partie grâce à la disponibilité d'une large base de données sur la caractérisation chimique des sucres primaires ainsi que sur la quantification des sources de PM₁₀ sur plusieurs sites d'études en France. Cette base de données unique est le fruit de nombreux programmes de recherches menés ces dernières années en collaboration avec de nombreux partenaires de l'IGE (équipes de recherche et AASQA). Ce travail, résolument interdisciplinaire, a également été possible grâce à la mise en œuvre de différentes approches complémentaires, impliquant entre autres la mise en place de deux campagnes annuelles de terrain spécifiques, le développement et/ou l'optimisation de méthodologies analytiques, l'utilisation conjointe

d'un large parc analytique de géochimie et de microbiologie moléculaire, et enfin le traitement statistique de données.

Référence :

Bozzetti, C., Daellenbach, K. R., Hueglin, C., Fermo, P., Sciare, J., Kasper-Giebl, A., Mazar, Y., Abbaszade, G., El Kazzi, M., Gonzalez, R., Shuster-Meiseles, T., Flasch, M., Wolf, R., Křepelová, A., Canonaco, F., Schnelle-Kreis, J., Slowik, J. G., Zimmermann, R., Rudich, Y., Baltensperger, U., El Haddad, I. and Prévôt, A. S. H.: Size-Resolved Identification, Characterization, and Quantification of Primary Biological Organic Aerosol at a European Rural Site, *Environ. Sci. Technol.*, 50(7), 3425–3434, doi:10.1021/acs.est.5b05960, 2016.

Coz, E., Artñano, B., Clark, L. M., Hernandez, M., Robinson, A. L., Casuccio, G. S., Lersch, T. L. and Pandis, S. N.: Characterization of fine primary biogenic organic aerosol in an urban area in the northeastern United States, *Atmos. Environ.*, 44(32), 3952–3962, doi:10.1016/j.atmosenv.2010.07.007, 2010.

Fuzzi, S., Baltensperger, U., Carslaw, K., Decesari, S., Denier van der Gon, H., Facchini, M. C., Fowler, D., Koren, I., Langford, B., Lohmann, U., Nemitz, E., Pandis, S., Riipinen, I., Rudich, Y., Schaap, M., Slowik, J. G., Spracklen, D. V., Vignati, E., Wild, M., Williams, M. and Gilardoni, S.: Particulate matter, air quality and climate: lessons learned and future needs, *Atmospheric Chem. Phys.*, 15(14), 8217–8299, doi:10.5194/acp-15-8217-2015, 2015.

Leck, C. and Bigg, E. K.: Biogenic particles in the surface microlayer and overlaying atmosphere in the central Arctic Ocean during summer, *Tellus B*, 57(4), 305–316, doi:10.1111/j.1600-0889.2005.00148.x, 2005.

Rathnayake, C. M., Metwali, N., Baker, Z., Jayarathne, T., Kostle, P. A., Thorne, P. S., O’Shaughnessy, P. T. and Stone, E. A.: Urban Enhancement of PM₁₀ Bioaerosol Tracers Relative to Background Locations in the Midwestern United States, *J. Geophys. Res. Atmospheres*, 121(9), 5071–5089, doi:10.1002/2015JD024538, 2016.

Stepalska, D. and Wolek, J.: Variation in fungal spore concentrations of selected taxa associated, *Aerobiologia*, 21(1), 43–52, doi:10.1007/s10453-004-5877-2, 2005.

Yttri, K. E., Lund Myhre, C. and Tørseth, K.: Les aérosols carbonés — un problème persistant, *Organ. Météorologique Mond.*, 58 (1), 54–60, 2009.

Zhang, Q., Jimenez, J. L., Canagaratna, M. R., Ulbrich, I. M., Ng, N. L., Worsnop, D. R. and Sun, Y.: Understanding atmospheric organic aerosols via factor analysis of aerosol mass spectrometry: a review, *Anal. Bioanal. Chem.*, 401(10), 3045–3067, doi:10.1007/s00216-011-5355-y, 2011.

Zhang, T., Engling, G., Chan, C.-Y., Zhang, Y.-N., Zhang, Z.-S., Lin, M., Sang, X.-F., Li, Y. D. and Li, Y.-S.: Contribution of fungal spores to particulate matter in a tropical rainforest, *Environ. Res. Lett.*, 5(2), 024010, doi:10.1088/1748-9326/5/2/024010, 2010.

Zhu, W., Cheng, Z., Luo, L., Lou, S., Ma, Y. and Yan, N.: Investigation of fungal spore characteristics in PM_{2.5} through organic tracers in Shanghai, China, *Atmospheric Pollut. Res.*, 9(5), 894–900, doi:10.1016/j.apr.2018.01.009, 2018.

Tables des figures

Figure 1: Les différentes couches et profil vertical de la température de l'atmosphère d'après météo France (http://education.meteofrance.fr/lycee/animations/la-structure-verticale-de-latmosphere).....	7
Figure 2: Images d'aérosols atmosphériques observés au microscope électronique: débris végétal (à gauche) et particule de carbone de suie à côté d'un agrégat minéral (à droite) (d'après Boucher, 2012). On remarque déjà une grande hétérogénéité de tailles, de formes et d'aspects parmi les aérosols atmosphériques.....	8
Figure 3: Représentation schématique de la distribution en taille de particules atmosphériques pour les différentes propriétés: masse, nombre, surface et volume et illustration de leurs processus de formation et d'élimination (d'après Buseck and Adachi, 2008).....	11
Figure 4: Niveau de déposition des différentes fractions de PM dans l'appareil respiratoire (adapté de Guarnieri and Balme, 2014).....	12
Figure 5: Représentation schématique simplifiée de la relation entre exposition aux particules atmosphériques et pathologies. Relations fortes (lignes plaines) et associations possibles (pointillés) (adaptée de Martinelli et al., 2013).....	15
Figure 6 : Le stress oxydatif : débalancement entre production d'espèces réactives de l'oxygène et les antioxydants (Kelly, 2003).....	16
Figure 7 : Le modèle de stress oxydatif : les différentes étapes (adaptée de Xiao et al., 2003; Baeza and Marano, 2007). A noter que cette hiérarchisation de la réponse varie selon notre susceptibilité individuelle.....	17
Figure 8: Estimation du forçage radiatif global de principaux constituants de l'atmosphère mesurés 2011 par rapport à 1750 (Rapport IPCC 2011). Chaque graphique en barre représente l'estimation moyenne du forçage. Les forçages positifs correspondent à un réchauffement du climat et ceux négatifs à un refroidissement. La dernière colonne à droite indique le niveau actuel de compréhension scientifique du forçage, qui est classé comme suivant : H (haut), VH (très haut), M (moyen) et L (bas).	19
Figure 9: Schéma simplifié des interdépendances entre la composition des aérosols, leurs propriétés, leurs interactions et transformations atmosphériques, leurs effets sur le climat et la santé et leurs sources (d'après Pöschl, 2005).....	20
Figure 10: Composition chimique globale de l'aérosol particulaire en PM _{2,5} et PM ₁₀ prélevées sur différentes typologies de sites en Europe (Golly, 2014, adaptée de Putaud et al., 2004). La matière organique (MO) a été estimée en multipliant la masse de carbone organique (OC) par un facteur correctif de 1.4. Ainsi la contribution de l'OM à la masse totale PM est très probablement sous-estimée (Fuzzi et al., 2015), ce qui explique en partie la fraction importante de matière particulaire non identifiée.	24
Figure 11 : Comparaison des concentrations d'aérosols organiques mesurées et prédites par un modèle eulérien de chimie-transport (CAMx) pour un site rural de fond en Suisse (adapté de Ciarelli et al., 2016). Les auteurs ont simulé trois scénarios de volatilité pour les aérosols organiques primaires. NOVBS : désigne le scénario où les aérosols organiques primaires ont été considérés comme non volatiles. VBS_ROB et VBS_BC désignent les scénarios où les aérosols organiques primaires ont été considérés comme volatiles et soumis aux oxydations dans l'atmosphère, mais en appliquant différents ratios de conversion primaire/secondaire.	27
Figure 12 : Distribution en taille des particules dans les aérosols organiques biogéniques primaires avec quelques exemples d'illustrations : (A) protéine ; (B) virus, (C) bactérie, (D) spore fongique et (E) grain de pollen.(adaptée de Fröhlich-Nowoisky et al., 2016).....	29
Figure 13: Structures moléculaires des carbohydrates détectés dans le cadre de cette étude, et qui ciblent spécifiquement les sources d'aérosols organiques biogéniques primaires. (A) Polyols et (B) les	

saccharides primaires détectés dans les aérosols. A l'heure actuelle, on estime que ces carbohydrates sont relativement stables dans l'atmosphère (Wang et al., 2018).	34
Figure 14: Les modèles-récepteurs couramment utilisés pour l'estimation des contributions des sources de PM atmosphériques (Viana et al., 2008). PCA: Principal Component Analysis; PMF: Positive Matrix Factorization; ME-2: Multilinear Engine; COPREM: Constrained Physical Receptor Model; CMB: Chemical Mass Balance.	36
Figure 15: Spéciation chimique des PM ₁₀ prélevées sur un site rural Suisse (pendant l'été 2012) et les différentes sources de matières organiques observées sur le site récepteur. Ces résultats montrent que le PBOA représente une fraction majoritaire de la MO et sa contribution est similaire à celle des aérosols organiques secondaires (adaptée de Bozzetti et al., 2016).	38
Figure 16 : Localisation des 28 sites de mesure exploités dans le cadre de ce travail de thèse. La ville de Grenoble (Grenoble_CB, Grenoble_LF et Grenoble_VIF) et la vallée de L'Arve (Passy, Marnaz et Chamonix) comprennent chacun 3 sites de mesure. La ville de Marseille comprend 4 sites de mesure : Marseille, Mallet, Gardanne et Meyreuil. Le code couleur indique les caractéristiques du site : jaune doré pour urbain (13), jaune doré foncé pour urbain dans région alpine (8), vert pour rural (5) et rouge pour trafic (2)	60
Figure 17 : Périodes de campagnes d'échantillonnage de PM sur l'ensemble des 28 sites d'étude investigués dans cette étude.	60
Figure 18 : Schéma représentant les fractions de filtres réservées pour les différentes les analyses chimiques spécifiques réalisées sur chaque filtre de prélèvement d'aérosols.	66
Figure 19: Evolution du rendement d'extraction de l'ADN total dans différentes conditions de température d'incubation et de sonication (adaptée de Luhung et al. 2015). A gauche, l'ADN total est quantifié au fluorimètre Qubit® et à droite, l'ADN bactérien et fongique est quantifié par PCR quantitative.	69
Figure 20: Exemple de courbes d'amplification de l'ADN génomique bactérien (ciblant la région hypervariable ADN _r 16S (V4)) contenu dans des échantillons de PM ₁₀ et extrait par les kits DNeasy PowerWater et le Lysing matrice A.	70
Figure 21 : Schéma récapitulatif simplifié du protocole optimisé pour l'extraction d'ADN génomique des particules atmosphériques. Toutes les étapes sont effectuées sous hotte à flux laminaire. Un tampon PBS frais et stérile est préparé tous les jours pour éviter les contaminations.....	72
Figure 22 : Les 3 étapes de la réaction de polymérisation en chaine de l'ADN (à gauche) et les nouveaux brins d'ADN générés au cours des quatre premiers cycles de la PCR (à droite) d'après Taberlet et al. 2018.....	74
Figure 23: Résumé schématique des étapes du séquençage Illumina (adapté de Lu et al., 2016). (1) Fixation des adaptateurs aux extrémités des fragments d'amplicons. (2) Les fragments se lient de façon complémentaire aux adaptateurs disposés sur la microplaque et l'amplification en pont (« bridge PCR ») des fragments à séquencer pour générer des copies identiques de chaque fragment (« cluster »). (3) A chaque cycle du séquençage, un nucléotide marqué aux fluorochromes est incorporé aux brins en cours de synthèse et un scanner optique permet d'enregistrer le signal fluorescent associé.	76
Figure 24 : (A) Oxydation du dithiothréitol (DTT) catalysée par les espèces redox-actives des PM et formation d'ERO (Espèces reactive de l'oxygène). (B) Dosage du DTT _{red} (forme réduite) par l'acide 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB) et formation de thionitrobenzoate (TNB), un composé jaunâtre (adaptée de Visentin et al., 2016). DTT _{ox} correspond à la forme oxydée du DTT.	78
Figure 25 : Oxydation de l'acide ascorbique (AA) induite par les espèces redox-actives des PM et formation d'ERO (ascorbate : Asc ²⁻ , radical ascorbyle : Asc ^{•-} et acide déshydroascorbique : DHA) (adaptée de Visentin et al., 2016).	79
Figure 26 : Hydrolyse de la DCFH ₂ -DA en milieu alcalin et mécanisme d'oxydation de la DCFH ₂ en présence d'ERO (adaptée de Reiniers et al., 2017).	79

Figure 27 : Exemples de développement de cellules bactériennes (A) et de spores fongiques (B) respectivement impactées sur les milieux de culture TSA et MA.....	80
Figure 28 : Exemples de cultures spécifiques de microorganismes isolés et identifiés : (A) correspond à des spores d’ <i>A. fumigatus</i> sur le milieu de culture MA et (B)= cellules de <i>Micrococcus</i> sp sur le milieu de culture TSA.	81
Figure 29 : Résumé schématique du prétraitement des bioaérosols modèles sélectionnés pour l’évaluation du potentiel oxydant des PM. Le détail des conditions opératoires est présenté dans la section matérielle et méthodes du chapitre 6.....	82
Figure SI-30: Timeline of Particulate matter (PM) sampling campaign periods for each studied site.	140
Figure SI-31: Spatial and seasonal average contributions of the sum of dominant polyols (arabitol + mannitol) and glucose to total organic (OM) aerosols at various sites in France.....	140
Figure SI-32 : Maximum seasonal contributions of dominant polyols to total organic aerosols (OM) at various sites in France.	141
Figure SI-33: Normalized contributions of the different sources to the PM mass found in the DECOMBIO and SOURCES research program for the annual sampling period (HFO: heavy fuel oil).	144
Figure SI-34: Mapping of the PBOA factor in the 16 PMF runs, according to bootstrap analysis (n=100 resampled runs). The number in parenthesis indicates the number of site where this factor was identified. BF stands for “Bootstrap factor”.....	145
Figure SI-35: Percentage of each species apportioned by the PBOA profile from PMF studies. Values lower than a few $\text{pg } \mu\text{g}^{-1}$ are not displayed on purpose. For each boxplot, the top, middle and bottom lines of the box represent the 75 th , median and 25 th percentile, respectively. The whiskers at the top and bottom of the box extend from the maximum to the minimum.	146
Figure SI-36: Constrained base run value and variability of EC apportioned by the PBOA factor, thanks to bootstrap analysis (n=100 resampled runs). The BS stands for “Bootstrap solution”. (A) Yearly average of EC mass apportioned by the PBOA ($\mu\text{g}_{\text{EC}}.\text{m}^{-3}$) and (B) mass-contribution of EC to PBOA mass ($\mu\text{g}_{\text{EC}}. \mu\text{g}_{\text{PM}}^{-1}$).....	146
Figure 37: Ambient concentrations of carbonaceous components in PM_{10} . (A; C to F) Daily variations of SCs and calcium concentrations along with daily agricultural activities around the study site. (B) Contribution of SCs to organic matter mass. Results for nine-week daily measurements indicate that SCs are a major molecular component of OM, contributing between 0.8 to 13.5% to OM mass in summer. Glycerol is not presented because its concentration was generally below the quantification limit.	187
Figure 38: Taxonomic and phylogenetic trees of fungal and bacterial community structure in PM_{10} at the study site. Phylogenetic trees are analyzed with the Environment for Tree Exploration (ETE3) package implemented in Python (Huerta-Cepas et al., 2016). The circle from inner to outer layer represents classification from kingdom to order successively. Further details on fungal and bacterial taxa at genus level are provided in fig. S47. The node size represents the average relative abundance of taxa. Only nodes with relative abundance ≥ 1 are highlighted in bold.	189
Figure 39: Main airborne microbial communities associated with atmospheric concentrations of SC species. NMDS ordination plots are used to show relationship among time series of aerosol samples. The stress values indicate an adequate 2-dimensional picture of sample distribution. Ellipses represent 95% confidence intervals for the cluster centroid. NMDS analyses are performed directly on taxonomically assigned quality-filtered sequences tables at class and phylum level respectively for Fungi (A) and Bacteria (B). Ambient primary sugar concentration levels in PM_{10} appear to be highly influenced by the airborne microbial community structure and abundance. Similar results are obtained with taxonomically assigned MOTU tables, highlighting the robustness of our methodology.	191

- Figure 40:** Heatmap of Spearman's rank correlation between SCs and abundance of airborne communities at the study site. (A) Fungal and (B) bacterial genus, respectively. Only genera with relative abundance ≥ 1 are shown. 192
- Figure 41:** Abundance of SC species-associated microbial taxa. (A) Fungal and (B) bacterial genera in the airborne PM₁₀ samples and surrounding environmental samples. Data were rarefied at the same minimum sequencing depth. 193
- Figure 42:** Compositional comparison of sample types in a NMDS scaling ordination. NDMS plots are constructed from a Horn distance matrix of MOTUs abundances for Fungi (A) and Bacteria (B), respectively. Data sets are rarefied at the same sequencing depth. The stress values indicate an adequate two-dimensional picture of sample distribution. Ellipses represent 95% confidence intervals for the cluster centroids. Circular and triangular shapes highlight air PM₁₀ samples respectively with background and peak SC concentrations. 193
- Figure 43 :** Overview of the sampling area at the OPE site (France). (A) Location of sampling units and (B) wind conditions (speed and direction) during the field sampling campaign period. 198
- Figure S44:** Rarefaction curves of MOTUs abundance grouped by types of samples. (A) Fungal and (B) Bacterial MOTUs. Solid curves represent the observations while the dashed ones show the interpolation. 203
- Figure S45:** Statistical comparisons of MOTUs richness and diversity across different types of samples. (A) Fungal and (B) bacterial MOTUs abundance. Data sets are rarefied at the same sequencing depth for each library. 204
- Figure S46:** Temporal dynamics of microbial relative abundance (normalized to sum 1). Only the most pronounced top 21 of respectively (A) fungal (B) and bacterial genera are labelled. 205
- Figure S47:** Atmospheric concentrations of carbonaceous components in PM₁₀. Temporal variations of primary sugar compounds in composite PM₁₀ and calcium concentrations along with daily agricultural activities performed around the study site. 206
- Figure S48 :** Heatmap of Spearman's rank correlation between SCs and abundance of airborne communities at the study site. (A) Fungal class-level (B) bacterial phylum-level, respectively. Only genera with relative abundance ≥ 1 are shown. 208
- Figure S49 :** Unsupervised hierarchical clustering of all samples (Aerosols, Leaves and Soils) based on Horn distance matrix. Dissimilarity matrixes have been calculated on the rarefied MOTUs tables... 209
- Figure 50 :** Localisation géographiques des sites sélectionnés pour cette étude. 217
- Figure 51 :** Courbes de raréfaction montrant l'accumulation des espèces en fonction de la profondeur de séquençage (trait plein) et courbes d'extrapolation montrant l'accumulation d'espèces (trait pointillé). (A) et (B) correspondent aux communautés fongiques et bactériennes, respectivement. 221
- Figure 52 :** Estimation de l'alpha-diversité globale au sein des échantillons collectés lors des deux campagnes d'échantillonnage de PM de 2017 et 2018 à l'OPE-ANDRA. (A) et (B) correspondent respectivement aux communautés fongiques et bactériennes. Les points à l'intérieur des boîtes à moustaches correspondent aux valeurs moyennes. 222
- Figure 53 :** Arbres phylogénétique montrant la diversité fongique et bactérienne dans les PM₁₀ collectées lors de l'été 2018. La taille des noeuds (en bleu) indiquent l'abondance relative des taxons. Seuls les taxons retrouvés en forte proportions ($\geq 1\%$) sont indiqués en gras. 224
- Figure 54 :** Positionnement multidimensionnel non métrique (NMDS) de la composition taxonomique des PM₁₀ selon l'année de la campagne d'échantillonnage. (A) et (B) correspondent aux communautés fongiques et bactériennes, respectivement. Avec une valeur de stress < 0.2 , la représentation donne une image satisfaisante de la composition taxonomique des différents échantillons. Les ellipses représentent les intervalles de confiance à 95% autour du centroïde des partitions (« clusters »). 225
- Figure 55 :** Dendrogrammes issus de la classification ascendante hiérarchique des échantillons de PM₁₀ collectées lors des campagnes d'été 2017 et 2018. L'algorithme de classification a été appliquée une la

matrice de dissimilarité de Horn, obtenue à partir du tableau d'abondance des espèces fongiques et bactériennes.	226
Figure 56 : Positionnement multidimensionnel non métrique (NMDS) des échantillons. (A) et (B) correspondent respectivement aux communautés fongiques et bactériennes. Avec une valeur de stress < 0.2, la représentation donne une image satisfaisante de la composition taxonomique des différents échantillons. Les ellipses représentent les intervalles de confiance à 95% autour de la centroïde des partitions (« clusters »). Les dynamiques temporelles de la concentration atmosphérique des sucres primaires sont gouvernées par la structure et l'abondance des communautés microbiennes atmosphériques. Le manque d'association statistiquement significative au seuil de 5% est très certainement lié à un nombre limité d'échantillons analysés (n= 16).	228
Figure 57 : Corrélation de Spearman entre les concentrations des sucres primaires et l'abondance des communautés microbiennes les PM ₁₀ atmosphériques. (A) et (B) désignent respectivement les classes fongiques et phyla bactériens dominants (> 1%).	229
Figure 58 : Similarité de la composition des communautés microbiennes (MOTUs) dans les échantillons de PM ₁₀ collectées sur les trois sites. (A) et (B) désignent respectivement les communautés fongiques et bactériennes. Avec une valeur de stress < 0.2, la représentation donne une image satisfaisante de la composition taxonomique des différents échantillons. Les ellipses représentent les intervalles de confiance à 95% autour du centroïde des partitions.	230
Figure 59 : Analyse NMDS réalisée à partir de la matrice de distance de Bray-Curtis basée sur la table d'abondance des espèces microbiennes dans les PM ₁₀ prélevées sur le site de Grenoble Les Frênes et dans les feuilles des plantes dominantes autour du préleveur. (A) et (B) désignent respectivement les communautés fongiques et bactériennes. La valeur de stress < 0.12 indique une représentation correcte de l'information initialement contenue dans la table abondance des espèces microbiennes.	231
Figure 60 : Classification hiérarchique réalisée à partir de la matrice de distance de Horn basée sur les tables d'abondances d'espèces microbiennes dans les PM ₁₀ et les plantes dominantes autour du préleveur d'aérosol à Grenoble Les Frênes.	231
Figure 61 : Analyse NMDS réalisée à partir de la matrice de distance de Bray-Curtis basée sur la table d'abondance des espèces microbiennes dans les PM ₁₀ prélevées sur le site de Marseille 5 avenue et dans les feuilles des plantes dominantes autour du préleveur. (A) et (B) désignent respectivement les communautés fongiques et bactériennes. La valeur de stress ≤ 0.12 indique une représentation correcte de l'information initialement contenue dans la table d'abondance des espèces microbiennes.	232
Figure 62 : Classification hiérarchique réalisée à partir de la matrice de distance de Horn basée sur les tables d'abondances d'espèces microbiennes dans les PM ₁₀ et plantes dominantes environnantes autour du préleveur d'aérosol à Marseille.	232
Figure 63 : Corrélation de Spearman entre les concentrations des sucres primaires et l'abondance spécifique de genres microbiens dans les aérosols prélevés à Grenoble Les Frênes. (A) et (B) désignent respectivement les genres fongiques et bactériens dominants (> 1%).	234
Figure 64 : Corrélation de Spearman entre les concentrations des sucres primaires et l'abondance spécifique de genres microbiens dans les aérosols prélevés à Marseille 5 avenue. (A) et (B) désignent respectivement les genres fongiques et bactériens dominants (> 1%).	235
Figure S 1: Monthly average variation of EC (ng.m ⁻³) at the 5 rural background sites.	109
Figure S 2: Monthly average variation of OC-to-EC ratio at the 5 rural background sites.	110
Figure S 3: Monthly average variation (%) of un-apportioned OC fraction calculated by mono-tracer approach at the 5 rural background sites.	111

Figure S 4: Monthly average variation (ng.m^{-3}) of Sodium and Magnesium at the 5 rural background sites.....	112
Figure S 5: PSCF probability of geographical origins of Levoglucosan emission sources for each site.	113
Figure S 6: PSCF probability of geographical origins of EC emission sources for each site.	113
Figure S 7: PSCF probability of geographical origins of Polyols emission sources for each site.	114
Figure S 8: PSCF probability of geographical origins of Oxalate emission sources for each site.	114
Figure SI 1: Examples of raw chromatograms obtained for the analysis of sugar compounds in PM10 analyzed by high performance liquid chromatography coupled with pulsed amperometric detection (HPLC-PAD). HPLC-PAD chromatograms of a standard sugar compounds (A) and an extract from the ambient PM samples collected at the sites of Meyreuil ((B) and OPE-ANDRA (C), respectively. ...	172
Figure SI 2: Diagnostic plots for the multiple linear regression analysis. The red solid lines are smoothed curves for detecting potential patterns.	173
Figure SI 3: Annual evolution cycles of the glucose (left) and levoglucosan (right) concentrations in PM ₁₀ measured at the urban site of Grenoble Les Frênes, from the years 2012 to 2018. The black marker inside each boxplot indicates the average value, while the top, middle and bottom of the box represent the 75 th , median and 25 th percentiles, respectively. The whiskers at the top and bottom of the box extend from the 95 th to the 5 th percentiles.	174
Figure SI 4: PSCF analysis for the OPE site (using pyPSCF and HYSPLIT). A) Back-trajectories associated with arabitol concentrations higher than the 75th percentile divided by the number of back-trajectories. C) Displays all the back-trajectories. The color scale indicated the probability that the specie comes from this cell (the darker color indicate higher probability).	174
Figure SI 5: Covariation cycles of the daily concentrations of polyols (A) and glucose (B) and vegetation density (LAI) at OPE-ANDRA, from 2012 to 2016.....	175
Figure SI 6: Example of the applied waveform program.....	177

Tables des tableaux

Tableau 1: Réglementation française concernant les concentrations de PM (https://www.airparif.asso.fr).	13
Tableau 2 : Estimation des flux d'émission des principaux types d'aérosols primaires et des précurseurs aux aérosols secondaires (d'après Boucher, 2012, 2015; Stocker et al., 2014). Tg = 10 ¹² g = 1 million de tonnes. Gg = 10 ⁹ g = 1 millier de tonnes. C = carbone, S = soufre, N = azote. A l'échelle globale les sources biogéniques représentent 90% de la masse particulaire émise. Toutefois, à l'échelle locale ou régionale les émissions anthropiques peuvent jouer un rôle prépondérant.	23
Tableau 3 : Principales caractéristiques des sites d'étude. Le symbole (+) indique les sites pour lesquels des données d'analyse de PM étaient disponibles pour cette étude.	62
Tableau 4: Fréquence et durée de la campagne d'échantillonnage sur chacun des sites d'étude à l'été 2018.	66
Tableau 5 : Comparaison des données de concentrations en sucres primaires particulaires dans les PM ₁₀ prélevées lors des campagnes d'été de 2017 et 2018. Les concentrations sont exprimées en ng m ⁻³ . LQ désigne la limite de quantification de l' HPLC/PAD.	219
Tableau 6 : Comparaison des données de concentrations en sucres primaires particulaires dans les PM ₁₀ prélevées sur les sites de Grenoble Les Frênes et Marseille 5 avenue lors de la campagne d'été de 2018. Les concentrations sont exprimées en ng m ⁻³ . LQ désigne la limite de quantification de l' HPLC/PAD.	220
Table SI-1: Characteristics of sampling sites (including altitude, site typology) and number of analyzed samples.	139
Table SI-2 : Yearly average mass concentrations of polyols and glucose according to the sampling site typologies. Concentration values are expressed in ng.m ⁻³	139
Table SI-3 : Input chemical species and uncertainties in the PMF run.	142
Table SI-4: Summary of the applied specific chemical constraints on source-specific tracers in the PMF factor profiles.	143
Table SI-5: Characteristic marker species for identifying PMF factors.	144
Table SI-6: PBOA average factor profile (in fraction of PM mass) identified in the DECOMBIO and SOURCES programs.	147
Table S7: Gradient operating conditions used for HPLC-PAD.....	176
Table 8 : Relationships between SCs and calcium in PM ₁₀ from the study site. Spearman's rank correlation analyses are based on the daily dynamics of chemicals species (n= 69).	187
Table S9: Identification of PM ₁₀ composite sample. Some daily filter samples were pooled together to from the composite samples used in MiSeq sequencing analysis.	207
Table S10: Minimum number of MOTUs reads per sample types. Unless specified otherwise, samples are randomly normalized to the smallest number of reads for within and between sample comparisons.	207
Table S 1: Measured concentrations (mean (min-max)) for all the sampling sites averaged from January through December, 2013.	109
Table SI 1: Characteristics of selected sites and data available.	169
Table SI 2: Annual average values ± standard deviation of aerosol chemical data at each site (concentrations in ng m ⁻³).	170
Table SI 3: Normalized cross-correlation coefficients (R) for sugar compounds and ratios between pairs of sites considering the sampling periods in common.	171

Table SI 4: Concentrations of individual sugar compounds in the standard solution and atmospheric PM samples. LD and LQ denote respectively detection and quantification limits. 172

Tables des abbréviations

AA : Acide ascorbique	ICP-MS : Spectroscopie de masse à plasma à couplage inductif
AASQA : Associations Agréées de Surveillance de la Qualité de l'Air	IGE : Institut des Géosciences de l'Environnement
ACP : Analyse en composante principale	IN : Nucléation des glaces (Ice nucleation)
ADN : Acide désoxyribonucléique	IPPC : Prévention et réduction intégrées de la pollution
AMS : Aerosol Mass Spectrometer	ITS : Espaceurs internes transcrits
ANDRA : Agence nationale pour la gestion des déchets radioactifs	LAURE : Loi sur l'Air et l'Utilisation Rationnelle de l'Energie
ANOSIM : Analyse de similarités	LB : Luria-Bertani
ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail	LD : Limite de détection
ANSP : Agence nationale de santé publique	MA : Malt Agar
ARIMA : Modèles autorégressifs à moyennes mobiles intégrés	MO : Matière organique particulaire
ARMA : Modèles autorégressifs à moyennes mobiles	MOTUs : Moléculaires Taxonomiques Opérationnelles
BC : Black Carbon	MSA : Acide méthylsulfonique
BPCO : Bronchopneumopathie chronique obstructive	MTE : Maladies thromboemboliques veineuses
C : Carbone	MVP : Maladies vasculaires périphériques
CCN : Noyau de condensation (ou Cloud condensation nuclei en anglais)	N : Azote
CH ₄ : Méthane	NGS : Séquençage de nouvelle génération
CMB : Chemical Mass Balance	NH ₃ : Ammoniac
CO ₂ : Dioxyde de carbone,	NMDS : Positionnement multidimensionnel non-métrique
COP : Conférence des Parties	NO _x : Oxydes d'azote
COV : Composés Organiques Volatiles	O ₃ : Ozone
CTM : Modèles de transport-chimie	OC : Carbone organique
CZO : Critical Zone Observatory	OCDE : l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques
DCFH : Difluorescéine	OM : Organic matter
DCFH ₂ -DA : 2',7'-dichlorofluorescéine diacétate	OMS : Organisation Mondiale de la Santé
DMS : Diméthylsulfure	OPE : Observatoire Pérenne de l'Environnement
D _p : Diamètre aérodynamique	PAD : Détecteur ampérométrique pulsé
DTNB : acide 5-5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque	PBOA : aérosols organiques d'origine biogénique primaire
DTT : Dithiothréitol	PBS : Phosphate buffer saturated
EC : Carbone élémentaire	PCR : Réaction en chaîne par polymérase
EMBL : Laboratoire Européen de Biologie Moléculaire	PM : Particulate Matter (Matière particulaire)
ERO : Espèces réactives de l'oxygène	PM ₁₀ : Particules dont le diamètre aérodynamique est inférieur à 10 µm
FISH : Hybridation in situ en fluorescence	PM _{2.5} : Particules dont le diamètre aérodynamique est inférieur à 2.5 µm
Gg : Gigagramme	PMF : Positive Matrix Factorization
GIEC : Groupe d'Experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat	PO : Potentiel oxydant
H ₂ O : Monoxyde de dihydrogène	PSCF : Potential Source Contribution Function
HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance	qPCR : Réaction de polymérisation en chaîne quantitative
HRP : Peroxydase de raifort (Horseradish peroxidase)	RPE : Résonnance paramagnétique électronique
HTS : High-throughput sequencing	

S : Soufre
S/N : *Ratio signal/bruit*
SC : *Primary sugar compounds*
SO₂ : *Dioxyde de soufre*
SO_x : *Oxydes de soufre*
Sucres primaires : *désignent ici les polyols et les saccharides primaires*

Tg : *Téragramme*
TNB : *Thionitrobenzoate*
TSA : *Trypticase Soja Agar*
UFC : *Unités formant colonies*
WHO : *World Health Organization*