

Изменчивость анатомической структуры хвои *Picea obovata* Ledeb. в условиях влияния выбросов промышленности г. Кемерово

О. М. ЛЕГОЩИНА¹, О. А. НЕВЕРОВА¹, А. А. БЫКОВ²

¹Институт экологии человека СО РАН
650065, Кемерово, просп. Ленинградский, 10

²Кемеровский филиал Института вычислительных технологий СО РАН
650025, Кемерово, ул. Рукавишникова, 21
E-mail: nev11@yandex.ru

АННОТАЦИЯ

Исследованы анатомо-морфологические показатели хвои *Picea obovata* Ledeb. в условиях влияния выбросов промзоны г. Кемерово. Среди изменений негативного характера выявлены: снижение длины, площади и поверхности хвои, толщины кутикулы и гиподермы, увеличение асимметрии центрально-го проводящего пучка, сокращение числа смоляных каналов. Среди изменений адаптивного характера обнаружены: увеличение толщины эпидермы и эндодермы, возрастание площади смоляных каналов и центрального цилиндра. Выявлены достоверные корреляционные связи комплексного показателя загрязнения атмосферы с анатомо-морфологическими характеристиками хвои. Это подтверждает факт существенного влияния выбросов промзоны г. Кемерово на анатомическую структуру хвои *Picea obovata* Ledeb.

Ключевые слова: промзона, комплексный показатель загрязнения атмосферы, хвоя, анатомические признаки, адаптивные изменения.

Интенсивное развитие промышленности в городах приводит к загрязнению окружающей среды. Мощным источником загрязнения атмосферного воздуха г. Кемерово является промзона, включающая Кемеровскую ГРЭС, КОАО “Химпром”, ОАО “Кокс”. Промзона расположена на границе Центрального и Заводского районов города в непосредственной близости к жилым кварталам. Приоритетными выбросами данных промышленных объектов являются оксиды азота, диоксид серы, оксид углерода, полiarоматические углеводороды, в том числе бенз(а)пирен и взвешенные вещества.

Известно, что древесные растения обладают высокой чувствительностью к антропо-

генной нагрузке, поэтому могут служить адекватными индикаторами состояния городской среды [1]. Для ранней диагностики состояния древесных растений и загрязнения атмосферного воздуха подходят характеристики ассимилирующих органов, которые в связи с их функцией газообмена являются первичным барьером при проникновении атмосферных токсикантов внутрь листа. В литературных источниках отмечается, что хроническое воздействие атмосферных токсикантов вызывает серьезные изменения анатомического строения листьев и хвои растений [2–5].

В связи с вышесказанным целью представленных исследований явилось изучение ана-

томо-морфологических характеристик хвои *Picea obovata* Ledeb. и их взаимосвязи с суммарным загрязнением атмосферы г. Кемерово в условиях преобладающего влияния выбросов промзоны.

Для достижения цели проведено моделирование загрязнения на пробных площадках наблюдения и изучены анатомо-морфологические признаки хвои *Picea obovata* Ledeb.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для исследований выбраны 6 площадок наблюдения (ПН), расположенные по факельному следу распространения выбросов от промзоны (по преобладающему юго-западному направлению ветров) (рис. 1).

Исследования проводили в летний период 2009 г. Для оценки среднего за длительный период загрязнения атмосферы г. Кемерово использован специальный модуль программного комплекса ЭРА, который согласован ГГО

им. А. И. Воейкова (С.-Петербург, Россия) на соответствие краткосрочной [6] и долгосрочной [7] модели. Комплекс ЭРА может быть применен для нормативных расчетов загрязнения атмосферы и позволяет использовать стандартные нормативные базы данных, накопленные в форматах программного комплекса ЭРА, отработанный интерфейс и все текстовые и графические возможности по представлению результатов (включая построение на цифровых и растровых картах). Для линейных и площадных источников используется процедура интегрирования с шагом, зависящим от удаления точки от источника, а шаг выбирается из условия непревышения вычислительной погрешности уровня 3 %.

Основное соотношение для вычисления средней за длительный период концентрации С в точке с полярными координатами (r, ϕ) относительно источника имеет следующий общий вид:



Рис. 1. Схема расположения площадок наблюдения в плане г. Кемерово.

Цифрами обозначены ПН: 1 – сквер у проходной ГРЭС (ул. Станционная, 17), 2 – парк им. Горького (вблизи спорткомплекса), 3 – территория станции Юннатов (пр. Шахтеров, 10), 4 – территория санатория “Журавлик” (ул. Терешковой, 7), 5 – сквер им. Шахтеров (между пр. Шахтеров и ул. Институтской), 6 – двор сельской больницы (ул. Авроры, 12). Расстояние от ПН 1 по прямой линии составляет: до ПН 2 – 1 км, до ПН 3 – 3 км, до ПН 4 – 4 км, до ПН 5 – 4,5 км, до ПН 6 – 6,5 км

$$C(r, \varphi) = \frac{p_1(\varphi)M}{r} \int_0^\infty du \int_0^\infty d\lambda p_2(u)p_3(\lambda)q(r, u, \varphi, \lambda, H_e), \quad (1)$$

где M (г/с) – средний за период осреднения выброс источниками. Расшифровка обозначений и формулы для подынтегральной функции q и эффективной высоты источника H_e в работе [7]. В состав выражения (1) входят три функции, представляющие плотности распределения: направление ветра $p_1(\varphi)$; скорость ветра $p_2(u)$; безразмерный параметр λ интенсивности турбулентного перемешивания $p_3(\lambda)$. Для нормативных расчетов эти распределения, определяющие режим долговременного загрязнения атмосферы в окрестности источника, запрашиваются вместе с остальными необходимыми параметрами в ГГО им. А. И. Войкова. Функция $p_1(\varphi)$ получается из стандартной 8-румбовой розы ветров путем интерполяции, вид которой определен в [7].

При расчете учтены данные инвентаризации из материалов сводного тома ПДВ г. Кемерово [8] приоритетных выбросов предприятий промзоны – оксидов азота, диоксида серы, оксида углерода, бенз(а)пирена и взвешенных веществ (зола, сажа и др.).

В процессе моделирования рассчитывался условный безразмерный комплексный показатель (КП) суммарного среднегодового загрязнения атмосферы:

$$\text{КП} = C_1/\text{ПДК}c_1 + C_2/\text{ПДК}c_2 + \dots + C_n/\text{ПДК}c_n,$$

где C – среднегодовая приземная концентрация; ПДК c – среднесуточная ПДК; индексы 1, 2, 3, ..., n относятся к вышеперечисленным загрязняющим веществам. Данный показатель не является нормативным гигиеническим критерием, поскольку далеко не все учтенные вещества обладают эффектом одностороннего воздействия на человека. Он носит смысл “суммарной техногенной нагрузки”, создаваемой промышленностью посредством атмосферного переноса загрязнения на ту или иную территорию города.

Объектом анатомических исследований являлась *Picea obovata* Ledeb. средневозрастного генеративного состояния, произрастающая в зоне действия выбросов предприятий промзоны. Для исследований брали по пять деревьев с каждой ПН. С модельных деревьев из средней части кроны с южной стороны сби-

рали побеги с хвоей 2-го года и фиксировали в 60 %-м растворе этилового спирта. Для анатомических исследований из средней части хвои делали поперечные срезы и помещали их в глицерин. Измерения анатомо-морфологических признаков хвои проводили с помощью микроскопа Аксис-скоп-2+, модель ZEISSN HBO103 и N HBO75 (Германия) с программным обеспечением. Площади тканей на поперечном срезе хвои измеряли с использованием программы “AreaS” 2.1. В ходе исследования определяли длину хвои и площадь поперечного среза, толщину тканей хвои, площадь мезофилла, количество и площадь смоляных каналов, площадь центрального цилиндра (ЦЦ), диаметр центрального проводящего пучка (ЦПП), расчетным способом определяли величину асимметрии ЦПП и отношение площади ЦП к поперечному срезу хвои. При статистической обработке данных применяли программу Statistica 6.0. Достоверность отличий анатомоморфологических параметров определяли по критерию Стьюдента при уровне значимости 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Значения комплексного показателя загрязнения атмосферы (КП) на ПН представлены в табл. 1. Данные таблицы показывают, что значения КП распределяются в порядке убывания при удалении от промзоны.

Существенная разница между значениями КП отмечается между ПН 1 и ПН 4. Так от 1 к 4 ПН значения КП распределяются следующим образом: 17,97 > 10,43 > 8,13 > 6,87. По мере удаления от промзоны, с 4 по 6 ПН, существенных различий в значениях КП не наблюдается, данный показатель варьирует в пределах 6,87–6,21.

Микроскопирование препаратов поперечных срезов хвои *Picea obovata* Ledeb. показало, что по мере приближения к промзоне в сравнении с ПН 6, максимально удаленной от источников выбросов, отмечается снижение длины и площади поверхности хвои (от ПН 5 к ПН 1 на 21–39 % и 26–57 % соответственно), уменьшается диаметр ЦПП (от ПН 4 к ПН 1 на 4–8 %) (табл. 2).

Установлено, что ЦПП в хвое *Picea obovata* Ledeb. располагается не строго по се-

Таблица 1

Значения комплексного показателя загрязнения атмосферы на исследуемых площадках наблюдения

№ п/п	Название ПН	Значение КП
1	Сквер у проходной ГРЭС (ул. Станционная, 17)	17,968
2	Парк им. Горького (вблизи спорткомплекса)	10,429
3	Территория станции Юннатов (пр. Шахтеров, 10)	8,132
4	Территория санатория "Журавлик" (ул. Терешковой, 7)	6,871
5	Сквер им. Шахтеров (между пр. Шахтеров и ул. Институтской)	6,281
6	Двор сельской больницы (ул. Авроры, 12)	6,208

редине, а немного смещается относительно центральной оси, при этом асимметрия увеличивается у деревьев по мере приближения к источнику выбросов. На ПН 4 и ПН 1 асимметрия ЦПП в хвое сосны увеличивается на 40–185 % относительно ПН 6 с максимумом на ПН 2 (см. табл. 2). Отмечалась редукция количества смоляных каналов до одного или полное их отсутствие (рис. 2).

Покровные ткани являются основным барьером между окружающей средой и внутренними тканями хвои, поэтому их состояние является очень важным диагностическим признаком. Кутикула образована воскоподобным веществом. Она покрывает наружные стенки эпидермы и защищает растения от излишнего испарения и проникновения болезнесторонних микроорганизмов [9]. Эндодер-

ма выполняет функцию пограничной ткани между внутренней и периферической частями хвои и отвечает за избирательный транспорт веществ к проводящим тканям [10].

Полученные нами данные свидетельствуют, что по мере приближения к источнику выбросов отмечается неоднозначная реакция в развитии различных тканей хвои, толщина и площадь некоторых видов тканей увеличивается, других – редуцируется. Так толщина кутикулы и гиподермы (ткань, образованная одним или несколькими слоями субэпидермальных клеток) от ПН 5 к ПН 1 в сравнении с ПН 6 уменьшалась на 12–37 % и 8–23 % соответственно. В большинстве случаев происходило снижение площади поперечного среза хвои (на 21–54 %), площади мезофилла (на 22–54 %), площади централь-

Таблица 2

Анатомические и морфологические признаки строения хвои ели сибирской в условиях действия выбросов промзоны г. Кемерово

Показатель	№ ПН					
	1	2	3	4	5	6
Длина хвоинки, мм	17,34 ± 0,63	13,96 ± 0,52	17,90 ± 0,81	15,55 ± 0,66	14,54 ± 0,52	22,73 ± 0,33
Площадь поверхности хвоинки, мм^2	41,93 ± 1,25	32,33 ± 2,31	48,9 ± 3,10	37,94 ± 3,30	39,46 ± 1,40	66,47 ± 2,20
Периметр поперечного сечения хвои, мм	2,37 ± 0,05	2,35 ± 0,11	2,69 ± 0,06	2,45 ± 0,08	2,71 ± 0,08	2,9 ± 0,07
Величина асимметрии ЦПП, мкм	7,06 ± 0,31	7,74 ± 0,13	6,52 ± 0,29	3,80 ± 0,19	2,73 ± 0,11	2,72 ± 0,12
Диаметр ЦПП, мкм	234,3 ± 9,9	242,1 ± 6,5	244,2 ± 11,1	234,3 ± 10,0	277,2 ± 10,8	255,2 ± 7,2
Высота, мкм:						
кутикулы	6,7 ± 0,31	5,3 ± 0,24	6,5 ± 0,26	6,1 ± 0,26	6,4 ± 0,31	7,6 ± 0,33
эпидермы	11,01 ± 0,52	11,6 ± 0,51	12,2 ± 0,54	10,6 ± 0,42	12,8 ± 0,66	10,8 ± 0,38
гиподермы	13,4 ± 0,5	14,9 ± 0,2	14,6 ± 0,6	15,4 ± 0,4	16,0 ± 0,1	17,3 ± 0,1
эндодермы	21,1 ± 0,9	15,1 ± 0,9	16,5 ± 0,4	16,3 ± 0,6	14,1 ± 0,4	16,4 ± 0,7

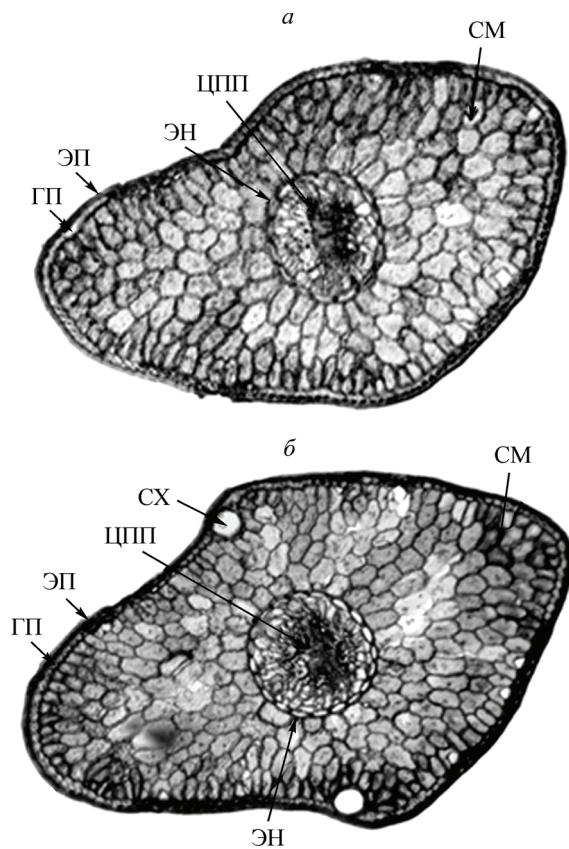


Рис. 2. Поперечные срезы хвои ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.), произрастающей в условиях действия выбросов промзоны г. Кемерово.
а – ПН 1 (сквер у проходной ГРЭС); б – ПН 6 (двор сельской больницы); ЭП – эпидерма; ГП – гиподерма; СМ – складчатый мезофилл; СХ – смоляные ходы; ЭН – эндодерма; ЦПП – центральный проводящий пучок

ногого цилиндра (ЦЦ) (на 14–55 %) (см. табл. 2, рис. 3).

В ряде работ сообщается об изменении анатомических признаков негативного характера у хвойных пород под воздействием техногенного загрязнения. В частности, Р. О. Собчак с соавт. [11] в условиях г. Горно-Алтайска установили уменьшение толщины кутикулы, эпидермы, эндодермы хвои *Abies sibirica* Ledeb., уменьшение длины и ширины устьиц, площади поверхности хвои, длины хвои, площади смоляных каналов, площади мезофилла и центрального цилиндра у *Pinus sibirica* Du Tour. О. М. Соболева с соавт. [12] в условиях г. Новоузенска выявили уменьшение ширины и высоты хвоинки, числа смоляных каналов, площадей центрального цилиндра и поперечного среза хвои *Pinus sylvestris* L.

А. К. Фролов [13] обнаружил, что в условиях г. Санкт-Петербурга наблюдалась редукция хвои *Pinus sylvestris* L., в результате чего число клеток мезофилла на 1 см² листа в уличных посадках Санкт-Петербурга в два раза меньше, чем в г. Прага. С. А. Сергейчик с соавт. [14] отметила угнетение роста и снижение длины годичных побегов и хвоинок *Pinus sylvestris* L. в зоне слабого задымления.

Вместе с тем нами выявлены анатомические изменения хвои адаптивного характера в условиях нарастания техногенной нагрузки. Так, по мере приближения к источнику выбросов (от ПН 3 к ПН 1) в сравнении с ПН 6 наблюдалось незначительное увеличение толщины эпидермы – на 2–13 %. В непосредственной близости к промзоне (ПН 1) происходило утолщение слоя эндодермы хвои на 29 % (см. табл. 2). Утолщение эпидермы и эндодермы можно рассматривать как усиление барьерных функций, направленных на ограничение поступления из воздуха токсических веществ внутрь хвои в первом случае, и ограничение поступления токсических веществ к проводящим пучкам во втором случае. Нами установлено, что с уменьшением количества смоляных каналов в ряде случаев (ПН 5, ПН 2, ПН 1) отмечалось возрастание их площади (на 17–50 % соответственно в сравнении с ПН 6) (см. рис. 3).

Смоляные каналы вблизи промзоны (ПН 1, 2) становились более короткими и одновременно более широкими. Подобные резуль-

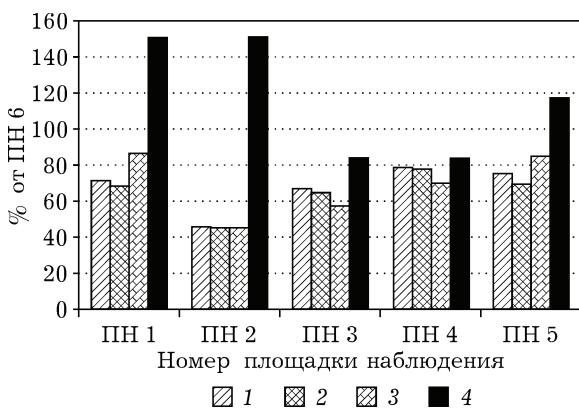


Рис. 3. Площади тканей на поперечном срезе *Picea obovata* Ledeb.
1 – поперечного среза; 2 – центрального цилиндра;
3 – мезофилла; 4 – смоляных ходов

таты получены А. А. Онучиным и Л. Н. Козловой [15], которые установили, что в зоне выбросов КАТЭКа у *Pinus sylvestris* L. происходит увеличение количества устьиц, числа смоляных каналов и средней и суммарной площадей их поперечных сечений. У Nuhoglu [16] обнаружил увеличение диаметра смоляных каналов в хвои *Pinus brutia* в зоне влияния ТЭЦ вблизи турецкого города Еникёя. А. П. Зотикова с соавт. [2] выявили защитные механизмы у *Picea obovata* Ledeb. и *Pinus sylvestris* L. в условиях атмосферного загрязнения. У *Picea obovata* Ledeb. увеличиваются толщина кутикулы, площадь мезофилла и центрального цилиндра, площадь поверхности и длина хвои. У *Pinus sylvestris* L. в техногенных условиях возрастает площадь мезофилла. К. В. Ладанова и С. Н. Плюснина [17] в зоне действия выбросов целлюлозно-бумажного комбината г. Сыктывкара отметили увеличение площади поперечного сечения хвои *Pinus sylvestris* L. в сосняке черничном.

Отношение площади ЦЦ к площади поперечного сечения хвои характеризует пропорциональность развития внутренних тканей и ее адаптивные возможности. В наших исследованиях данный показатель вблизи источников выбросов на ПН 1 был выше, чем на ПН 6, на 21 %. Довольно часто это связано с активацией процессов выведения и детоксикации различных повреждающих агентов. Однако ценой такой адаптации бывает угнетение фотосинтетической функции листового аппарата, что структурно выражается в уменьшении площади мезофилла – основной ткани листа, содержащей хлоропластины.

Данные корреляционного анализа выявили достоверную связь комплексного показателя загрязнения атмосферы с некоторыми анатомо-морфологическими характеристиками хвои *Picea obovata* Ledeb. Выявлена отрицательная связь этого показателя с периметром поперечного сечения хвои ($r = -0,5$ при $p < 0,05$, $n = 36$) и толщиной гиподермы ($r = -0,34$ при $p < 0,05$, $n = 54$). Была обнаружена положительная связь с толщиной эндодермы ($r = 0,51$ при $p < 0,05$, $n = 35$) и величиной асимметрии центрального проводящего пучка ($r = 0,41$ при $p < 0,05$, $n = 34$), а

также с площадью смоляного хода ($r = 0,42$ при $p < 0,05$, $n = 34$). Это свидетельствует о существенном влиянии промышленных выбросов на анатомо-морфологические перестройки хвои *Picea obovata* Ledeb.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что в условиях преобладающего влияния выбросов промзоны г. Кемерово отмечаются изменения анатомо-морфологических показателей хвои *Picea obovata* Ledeb. В большей степени выявлены изменения негативного характера: снижение длины хвои и площади ее поверхности, увеличение асимметрии центрального проводящего пучка, снижение толщины кутикулы и гиподермы, отмечается редукция количества смоляных каналов. Выявленные изменения усиливаются по мере приближения к промзоне.

Вместе с тем отмечаются анатомо-морфологические изменения адаптивного характера: по мере приближения к источнику выбросов увеличивается толщина эпидермы и эндодермы, ограничивающие поступление из воздуха токсических веществ внутрь хвои в первом случае и к проводящим пучкам во втором случае. Наряду с сокращением числа смоляных каналов возрастает их площадь. Это является приспособительной реакцией растения на воздействие поллютантов за счет более интенсивного образования смолы, которая выполняет защитную функцию. Аналогично возрастают относительные значения площади центрального цилиндра, что объясняется усилением транспортных процессов в хвое, направленных на выведение ксенобиотиков.

Выявленные достоверные корреляционные связи комплексного показателя загрязнения атмосферы с периметром поперечного сечения хвои, толщиной гиподермы, эндодермы, величиной асимметрии центрального проводящего пучка и площадью смоляных ходов подтверждают факт существенного влияния выбросов промзоны на анатомо-морфологические перестройки хвои *Picea obovata* Ledeb.

Работа выполнена в рамках Интеграционного проекта СО РАН № 84.

ЛИТЕРАТУРА

1. Николаевский В. С. Экологическая оценка загрязнения среды и состояния наземных экосистем методами фитоиндикации. Пушкино: ВНИИЛМ, 2002. 220 с.
2. Зотикова А. П., Бендер О. Г., Собчак Р. О., Астафурова Т. П. Сравнительная оценка структурно-функциональной организации листового аппарата хвойных растений на территории г. Горно-Алтайска // Вестн. ТГУ. 2007. № 299(1). С. 197–200.
3. Курковская Л. В. Морфофункциональные особенности хвойных растений в условиях городской среды: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2002. 22 с.
4. Кулагин Ю. З. Древесные растения и промышленная среда. М.: Наука, 1974. 125 с.
5. Николаевский В. С. Биологические основы газоустойчивости. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1979. 280 с.
6. ОНД-86. Методика расчета концентраций в атмосферном воздухе вредных веществ, содержащихся в выбросах предприятий. Л.: Гидрометеоиздат, 1987. 92 с.
7. Методика расчета осредненных за длительный период концентраций выбрасываемых в атмосферу вредных веществ (Дополнение к ОНД-86). СПб.: ГГО им. А. И. Воеjkova, 2005. 15 с.
8. Ажиганич Т. Е., Алексейченко Т. Г., Быков А. А. и др. Проведение сводных расчетов загрязнения атмосферы г. Кемерово для нормирования выбросов и диагностических оценок // Экология города. Проблемы. Решения: тр. V Городской науч.-практ. конф. Кемерово, 2003. С. 41–45.
9. Кравкина И. М. Влияние атмосферных загрязнителей на структуру листа // Ботан. журн. 1991. Т. 76, № 1. С. 3–9.
10. Эсаяу К. Анатомия растений. М.: Мир, 1969. 564 с.
11. Собчак Р. О., Дегтярева О. Н., Астафурова Т. П. Комплексная оценка состояния пихты сибирской *Abies sibirica* Ledeb. в условиях городской среды // Хвойные boreальные зоны. 2004. Вып. 2. С. 100–109.
12. Соболева О. М., Кондратенко Е. П., Пинчук Л. Г. Комплексная оценка состояния ассимиляционного аппарата сосны обыкновенной в г. Новокузнецке // Вестн. Алт. гос. аграр. ун-та. 2009. № 7 (57). С. 33–36.
13. Фролов А. К. Окружающая среда крупного города и жизнь растений в нем. СПб.: Наука, 1998. 328 с.
14. Сергейчик С. А. Устойчивость древесных растений в техногенной среде. Минск, 1994. 279 с.
15. Онучин А. А., Козлова Л. Н. Структурно-функциональные изменения хвои сосны под влиянием поллютантов в лесостепной зоне Средней Сибири // Лесоведение. 1993. № 2. С. 39–45.
16. Nuhoglu Y. The harmful effects of air pollutants around the Yenikoy thermal power plant on architecture of Calabrian pine (*Pinus brutia* Ten.) needles // J. Environ Biol. 2005, Jun, Vol. 26 (2 Suppl). P. 315–222.
17. Ладанова К. В., Плюснина С. Н. Анатомо-морфологические изменения разновозрастной хвои сосны обыкновенной в зоне действия Сыктывкарского лесопромышленного комплекса // Лесной журнал. 1998. № 1. С. 7–11.

The Variability of the Anatomical Structure of Pine Needles of *Picea obovata* Ledeb. under the Effect of Emissions from the Industrial Zone of Kemerovo

O. M. LEGOSHCHINA¹, O. A. NEVEROVA¹, A. A. BYKOV²

¹ Institute of Human Ecology, SB RAS
650065, Kemerovo, Leningradskiy ave., 10

² The Kemerovo branch of the Institute of computational technologies, SB RAS
650025, Kemerovo, Rukavishnikov str., 21
E-mail: nev11@yandex.ru

The anatomic-morphological indicators of the needles of *Picea obovata* Ledeb. under the effect of emissions from the industrial zone of Kemerovo were investigated. Some changes of the negative nature were detected: a reduction of length, area and the surface of pine needles, the thickness of the inner lining and epidermis, an increase in the asymmetry of the central conducting beam, a reduction of the number of pitch channels. Some changes of the adaptive nature were also detected: an increase in the thickness of epidermis and endodermis, an increase in the area of pitch channels and the central cylinder. The significant correlation of the complex index of atmospheric pollution with the anatomic-morphological characteristics of pine needles was revealed. This confirms the fact of the substantive effect of emissions from the industrial zone of Kemerovo on the anatomical structure of pine needles of *Picea obovata* Ledeb.

Key words: industrial zone, the complex index of atmospheric pollution, pine needles, anatomical features, adaptive changes.