

METODER FOR REGISTRERING

AV

TOKSISK RELATERT VEKSTENDRING HOS SOPPMYCEL
Tungmetallpåvirkning på aksenisk mycel av *Lepista multiforme*



Hans Gotfred Dybdahl

Hovedoppgave for Cand. scient

Biologisk institutt

Universitetet i Oslo

2007

Takk til alle som på en eller annen måte har bidratt til at jeg omsider fikk gjort ferdig oppgaven! Spesiell takk til mine to veiledere, Klaus Høiland og Carl Morten M. Laane, som på hver sin måte åpnet døren til den vitenskapelige delen av biologifaget. Takk også til Kolbjørn Mohn-Jensen, som gjennom sitt smittende engasjement lokket meg inn i mykologiens verden. Kolbjørn har dessuten bidratt med *Lepista multiforme*-mycel og utlån av nødvendig plateleserutstyr fra Mycoteam as. Takk til Studieseksjonen ved Biologisk Institutt, for tålmodigheten! Takk til Bjørknes Privatskole for økonomisk støtte til trykking.

Bilder:

Forsidebildet av *Lepista multiforme* har Kolbjørn Mohn-Jensen tatt på Svalbard.

Fig 2.2 høyre er hentet på www.neuroprobe.com/products.

Baksidebildet av en *skrivekule* er hentet fra www.malling-hansen.org.

Øvrige figurer er egenprodusert materiale.

Trykk og fals:

punkt 1

Larvik, Norge

| | |
|---|-----------|
| INNHold | |
| ABSTRACT | 4 |
| INNLEDNING | 5 |
| METODOLOGISKE RESULTATER OG METODEUTVIKLING | 6 |
| Metode for optisk registrering av mycelvekst | 6 |
| Tilpasning av næringsløsning | 6 |
| Metode for inokulering | 8 |
| Tilsetting av metallioner, fortynningsrekke | 8 |
| Tilpasning av inkuberingsbetingelser | 8 |
| Valg av bølgelengde for optiske målinger | 10 |
| Første storskalaforsøk | 10 |
| Andre storskalaforsøk | 12 |
| Forsøksoppsett for undersøkelse av surhetsgradens betydning | 12 |
| Utvikling av sammenlikningskriterium, IC_{75} | 14 |
| Sammenhengen mellom elektronegativitet og toksisitet | 15 |
| Metode for morfologiske studier av initiell veksthemming | 16 |
| Tilpasning av kolloidiumfilmer | 16 |
| Inokulerings-, inkubasjons- og fikseringsteknikk | 16 |
| Forsøksoppsett for morfologiforsøk | 18 |
| Målemetode for initiell veksthastighet. | 18 |
| Metode for undersøkelse av lang tids veksthemming | 20 |
| Utvikling av vekstrør | 20 |
| Utvikling av teknikk for registrering av resultater | 20 |
| Forsøk med svake toksiske effekter | 20 |
| GENERELLE RESULTATER | 22 |
| Optisk registrering av mycelvekst | 22 |
| Virkingen av maltkonsentrasjon i inokuleringsagaren | 22 |
| Betydningen av pH i næringsløsningen | 22 |
| Første storskalaforsøk | 24 |
| Andre storskalaforsøk | 26 |
| Sammenlikning av resultatene, IC_{75} | 26 |
| Sammenhengen mellom elektronegativitet og toksisitet. | 30 |
| Morfologi og initiell veksthemming | 31 |
| Veksthemming over lang tid | 35 |
| DISKUSJON | 36 |
| KONKLUSJON | 40 |
| LITTERATURLISTE | 41 |
| APPENDIKS | 44 |
| Første storskalaforsøk | 44 |
| Andre storskalaforsøk | 51 |
| Elektronegativitet og toksisitet | 70 |
| Verdier fra initiell veksthemming | 71 |

ABSTRACT

In order to investigate the effect of different polluting agents to fungi, there is an obvious need for methods for estimating fungal growth.

Given that the traditional methods are not accurate and efficient enough, the aim of this work has been to establish new and better ones. The main emphasis has been on a method based on growth in liquid solutions, in which increase in hyphal biomass is registered optically.

Complying with the results of other workers, this methodology is shown to provide information about

how metal ions influence fungal growth. This part of the work suggests four toxicity groups (fig 1.1). Also in this thesis I present a method for fungal growth studies that enable the investigator to work on a microscopic level. By letting the mycelium

grow in a layer with the thickness of only one cell on a microscope slide, both growth distance and cell morphology can be scrutinized through

microscope techniques. Finally I put forward a technique for continually investigating the effect of toxic agents on hyphal growth during several weeks. Here the growth proceeds in the wall of a hollow agarose cylinder, protected by a glass tube. The growth is kept pace with by a mechanical typewriter, modified to transfer growth distance from the growth

tube to a sheet of paper. All experiments have been conducted upon mycelia from the Alpine basidiomycete *Lepista multiforme* (Romell) Gulden.

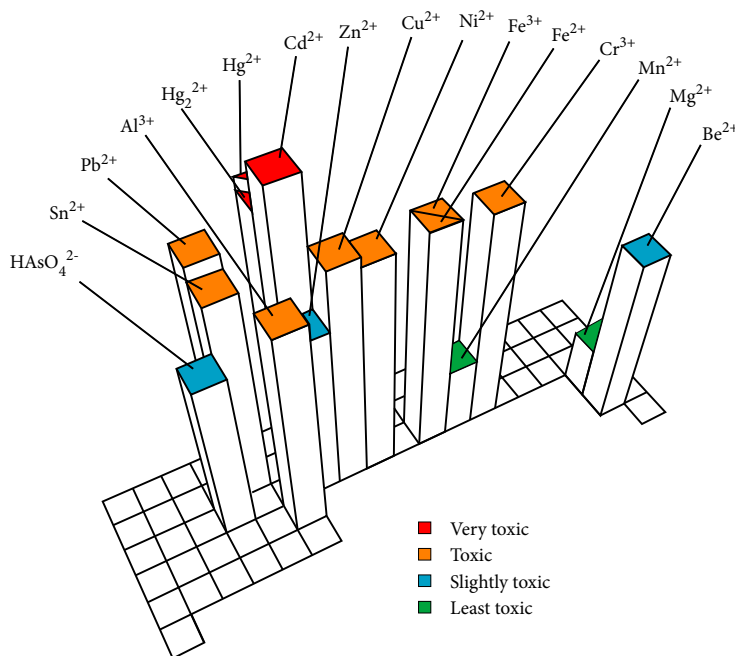


Figure 1.1

The investigated ions arranged according to the Periodic Table of the Elements. The height of the bars, representing toxicity, are made logarithmic in order to be presented together in one drawing.

INNLEDNING

Sopp hyfer og det mycelet hyfene danner, representerer et interessant medium for toksikologiske studier. Hyfer har spissvekst (Trinci, 1971). Dette byr på gode muligheter for å studere giftvirkninger, både som *endring i veksthastighet* og som *morfologiske endringer*. Metodene som tradisjonelt benyttes til slike undersøkelser utnytter ikke til fulle det potensialet som ligger i hyfenes voksemåte. De vanligste metodene for mycelkvantifisering har vært tørrvektbestemmelse fra mycel i flytekultur, og manuell måling av radialvekst i agarskåler. Jeg vurderer begge metodene som svært tidkrevende og til dels unøyaktige. Utgangspunktet for denne hovedoppgaven var å undersøke ulike tungmetallers innvirkning på mycelvekst. Under de innledende forsøkene og gjennom arbeidet med å definere oppgaven, ble behovet for bedre metoder så påtrengende at utviklingen av slike ble gjort til hovedtema. Jeg har derfor som første hovedmål søkt å omgå problemene ved tradisjonell tørrvektbestemmelse ved å ta i bruk plateleserteknologi. Dette kan med hell tilpasses de fleste typer sopp (Høiland og Dybdahl, 1993), men for selve metodeutviklingen var det viktig å finne en sopp med optimale karaktertrekk. De etablerte laboratorieartene som *Neurospora crassa*, *Penicillium ssp* osv har ofte pigmenterte hyfer, pigmenterte sporer osv, som skaper problemer i forbindelse med optiske måleteknikker. Jeg har valgt et enkelt kollekt av en alpin basidiomycet (*Lepista multiforme* (Romell) Gulden) som testorganisme. Hyfene hos denne har moderat veksthastighet, lav hyfepigmentering og minimal tendens til dannelse av mycelstrenger og gjærrelleknende stadier. Andre hovedmål har vært å benytte plateleserteknikken for å undersøke toksisiteten til utvalgte metallioner på *L. multiforme* og sammenlikne med tidligere studier av metalliontoksisitet

generelt for sopp. Metoden gir, som for tidligere metoder, et begrenset tidsintervall for vekststudier. Derfor er metoden best egnet på vekstperioder fra noen få dager for de hurtigst voksende artene, til opptil et par uker for de mer langsomt voksende artene.

Jeg har derfor hatt som et underordnet mål å utvikle en teknikk for registrering av initiell vekst, og som et annet underordnet mål, søkt å utvikle en metode for kontinuerlige vekstmålinger over flere uker. Den første av disse teknikkene bygger på en gammel metode for morfologiske studier av mycel. Dermed gis det mulighet for en kombinasjon av morfologistudier og studier av veksthastighet. Den siste metoden er i prinsippet en videreføring av vekstforsøk med agar som medium.

Metallionene som undersøkes i oppgaven er både det som tradisjonelt kalles tungmetaller, sammen med ionene fra noen metaller med lettere atomkjerner (Niedor & Richardson, 1980). Arsen er også tatt med, og er for ordens skyld, et halvmetall. Utvalget representerer en rimelig variasjon i kjemiske og toksiske egenskaper.

METODOLOGISKE RESULTATER OG METODEUTVIKLING

Tre alternative metoder ble forsøkt utviklet for kvantifisering av mycelvekst. En metode baserer seg på vekst i flytemedium hvor tilveksten av hyfer registreres optisk i mikrotiterplater. En annen metode baserer seg på at et tynt mycel vokser mellom et objektglass og en kolloidiumfilm. Veksten måles som avstand fra inokuleringspunkt til hyfespiss. Metoden er rettet mot initiell vekst og krever avlesning i lysmikroskop. Den tredje metoden lar mycelveksten foregå i en agarosesylinde med hul kjerne. Også her måles veksten som avstand fra inokulering til hyfespiss, men veksten kan foregå over mye lenger tid.

Metode for optisk registrering av mycelvekst

I tidligere undersøkelser er mycelvekst i flytekulturer ofte målt ved hjelp av tørrvektbestemmelse. Metodene er tidkrevende og belagt med store feilkilder. Jeg har derfor valgt å registrere mycelvekst *in situ* med optisk måleutstyr. Forskere som arbeider med *bakterier* og *gjærceller*, har i lang tid kunnet benytte seg av endring i optisk tetthet som mål for cellevekst i suspensjoner, men metodene herfra er ikke direkte overførbare. Sopp som vokser med hyfer, vil normalt ikke fordele seg homogent i en næringsløsning. Målinger utført ved hjelp av tradisjonelle kuetter med horisontal lysgjennomgang blir derfor ofte lite representative. Det vil være særlig høy grad av inhomogenitet fra kontaktflaten mellom luft og næringsløsning og et stykke nedover i løsningen. Et bedre utgangspunkt for optisk avlesning av hyfemengde får man med kuvettetyper som er utviklet for vertikal lysgjennomgang (fig 2.1). Jeg valgte å prøve ut gammasteriliserte mikrotiterplater av polystyren (NUNCLON DELTA, InterMed).

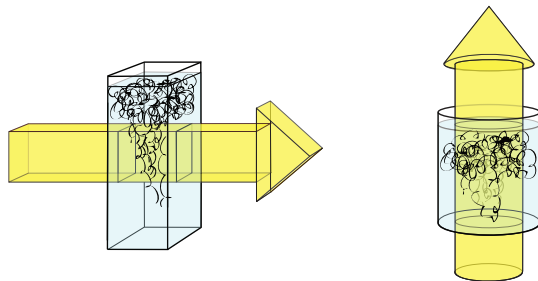
Mikrotiterplatene består av 96 brønner fordelt over åtte

rader (A-H) og 12 kolonner (1-12) (fig 2.2). Hver av brønnene rommer ca 300 µl. Optisk tetthet måles individuelt for hver brønn ved hjelp av vertikale lysstråler (fig 2.3).

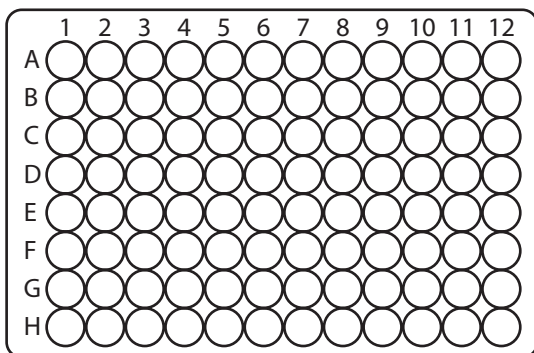
Mikroplateteknikken ble innledningsvis prøvd ut på en *3550 Microplate Reader* (BIO-RAD), tilkopledd en *Macintosh computer*. Avlesningsverdiene ble lagret og behandlet på *EXCEL regneark* (Microsoft). Disse innledende forsøkene ble brukt til å optimalisere *næringsløsning*, *inokuleringsteknikk*, *metalliontilsetting* og *inkubasjon* for mikroplateteknikken:

Tilpasning av næringsløsning

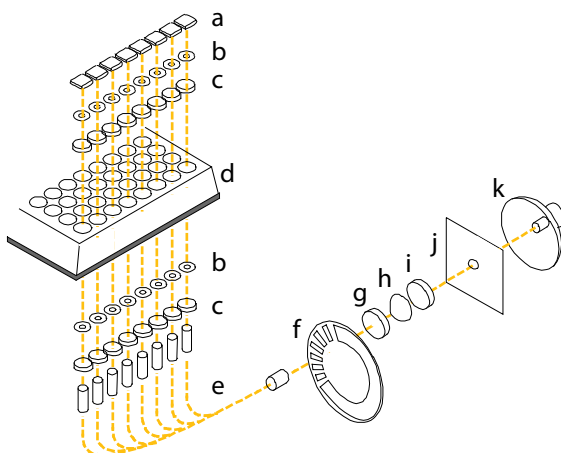
En rekke ulike næringsløsninger og konsentrasjoner ble undersøkt. Den best egnete syntes å være 1,5 % (15 g/liter) flytende maltekstrakt (Moss maltextraktfabrik). Denne næringsløsningen er enkel å tillage, og gir god vekstrate. Malt er et rikt medium som inneholder spor av metallioner. Så lenge det er toksisiteten til metallionene som analyseres og ikke deres rolle som sporstoffer, kan man i hovedsak se bort fra dette. En maltkonsentrasjon på 1,5 % har lav optisk tetthet, slik at absorpsjonsverdiene i hovedsak skyldes sopphyfer og eventuell utfelling. Samtidig gir en slik maltkonsentrasjon tilnærmet optimale vekstbetingelser gjennom hele vekstperioden. For sammenlikning av resultater fra flere forsøksserier, er konsentrasjonen av karbohydrater i næringsløsningen av stor betydning. Glukose er vist å ha innvirkning på soppens perifere vekstsone (Trinci, 1971), og er derfor i motsetning til f.eks temperatur og kjemiske inhibitorer, av avgjørende betydning for hyfenes veksthastighet. Dette har klar sammenheng med vannpotensialet i næringsløsningen. Høy glukosekonsentrasjon i næringsløsningen fører til lavt trykk i hyfespissen, og gir dermed ikke optimal vekst. For lite glukose gir redusert veksthastighet som følge av næringsmangel.



Figur 2.1 Lysgjennomgang i tradisjonell kuvette og mikrotiterbrønn



Figur 2.2 Mikrotiterplate



- a fotodioder
- b optisk stopper
- c linser
- d mikrotiterplate
- e optiske fibre
- f kuttehjul
- g filter
- h linse
- i varmefilter
- j feltstopper
- k lampe

Figur 2.3 Plateleseroptikk (fritt etter BIO-RAD)

Metode for inokulering

I vekstforsøk med bakterier eller gjær brukes gjerne fortynnede cellesuspensjoner som inokulum. Denne metoden ser jeg på som relativt uegnet for sopp med hyfer. De trådformete hyfene lar seg vanskelig fordele jevnt i en suspensjon. Hyfer kan homogeniseres med hurtigmikser eller tilsvarende teknikker, men ikke uten at en ukjent andel av cellene dør. Jeg har derfor benyttet en teknikk hvor hyfene sprer seg i et agarmedium i et jevnt lag, og hvor det stanses ut identiske inokler for videre vekst. Som inokulum valgte jeg 0,2 % maltagar. Agaren var gjennomvokst med hyfer og ble stanset ut fra petriskåler med 14 cm diameter. Det er gunstig at alt inokulum til en mikrotiterplate hentes fra samme petriskål. Ved å bruke store skåler, kan alle de 96 agarskivene stanses ut med omtrent samme avstand fra mycelsentrum. Dette gir inokuli tilnærmet samme alder, hyfetetthet og vitalitet. Det ble sørget for tilnærmet lik tykkelse på alle agarbitene ved å tilsette petriskålene 30 ml flytende agar. Dette gir agartykkelse på ca 2 mm. Agaren med mycel ble stanset ut av skålen med bakenden av en steril pasteurpipette, for så å bli overført til mikrobrønnene med en flammesterilisert nål (fig 2.4). For å få feste mellom agaren og bunnen av brønnene, ble agarsylinderene overført til tomme brønner. Det ble benyttet brønner med flat bunn. Sopp som vokser i agar vil ofte danne luftmycel på oversiden. Alle agarskivene ble plassert med luftmycelet opp. Ved forsiktig tilsetting av testløsning vil agarskivene forbli fastklebet til bunnen av brønnene. Innledende forsøk med teknikken indikerte at høy maltkonsentrasjon i inokuleringsagaren motvirker toksisiteten til testmediet. Et eksempel på hvordan maltkonsentrasjonen i inokuleringsagaren kan synes å påvirke toksisiteten til kobberioner er vist under *generelle resultater* (fig 3.1).

Tilsetting av metallioner, fortynningsrekke

Metallene ble tilsatt som sulfat, klorid eller nitrat, mens arsen ble tilsatt i form av hydrogenarsenat:

$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 16 \text{H}_2\text{O}$ (AnalaR, Prod. No. 10010, BDH),
 $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (MERCK, Art. 6284, 941 CC541284),
 $\text{BeSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (MERCK, Art. 1828, 937 AA584228),
 $\text{CdSO}_4 \cdot 3/8 \text{H}_2\text{O}$ (MERCK, Art. 2027, 006 B151727),
 $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (GPR, Prod. No. 27760, BDH),
 $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ (MERCK, Art. 2790, 8551835),
 $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (MERCK, Art. 4437, 033 CC649837),
 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (MERCK, Art. 4439, 017 CC649739),
 $\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (MERCK, Art. 6727, 044 B284927),
 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (AnalaR, Prod. No. 10145, BDH),
 $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Norsk Medisinaldepot, A. Nr. 8J118/1319202),
 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (AnalaR, Prod. No. 10299, BDH)

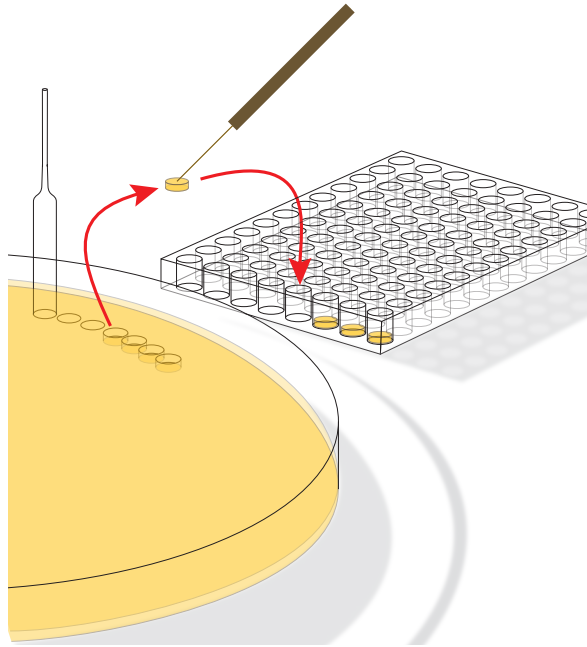
Det ble benyttet en 3/5 fortynningsrekke i de endelige forsøkene. Det betyr en fortykning der

$$[M]_n = \frac{3}{5} [M]_{n-1} \quad (1)$$

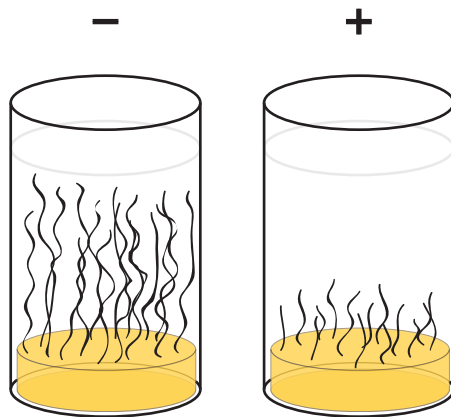
En slik fortynningsrekke gjør det mulig innenfor formatet 96 brønner, å få til en gradient fra tilnærmet optimale vekstbetingelser til dødelig konsentrasjon av et metallion, samtidig med at hver metallionkonsentrasjon gjentas i et tilfredsstillende antall paralleller.

Tilpasning av inkuberingsbetingelser

De inokulerte brettene ble oppbevart i termostatregulert kulturskap ved 20°C i 10 dager. Mycelet fra *L. multiforme* fyller da det meste av væskevolumet i brønner uten veksthemmende stoffer, uten å vokse gjennom overflaten (fig 2.5). For andre arter trengs andre inkubasjonstider (Høiland & Dybdahl, 1993).



Figur 2.4 Inokulering av mikrotiterplate



Figur 2.5 Mycelvekst i brønn uten (-) og med (+) veksthemmer.

Valg av bølgelengde for optiske målinger

Lys med ulik bølgelengde har ulik penetrasjonsevne i vandige løsninger (Sternheim & Kane, 1986). Innenfor intervallet av bølgelengder som er tilgjengelige i de benyttede plateleserene, har lys med lengst bølgelengdene størst penetrasjonsevne. Samtidig vil lys med kortest bølgelengde gi best oppløselighet og dermed bedre kunne fange opp små endringer i optisk tetthet. Valget av bølgelengde ble gjort med tanke på å sikre best mulig oppløselighet, uten å miste avlesningsverdier i brønnene med høyest hyfetetthet. Enkle innledende forsøk bekreftet disse forholdene og fremhevet 450 nm som optimal bølgelengde.

Første storskalaforsøk

På bakgrunn av de innledende forsøkene ble metoden anvendt i stor skala. Målingene ble nå utført ved hjelp av en annen mikroplateleser; MR 7000 (Dynatech Industries). Her ble hver mikrotiterplate benyttet til å undersøke påvirkningen av to ulike metallioner. Radene A, B, C og D ble tilført næringsløsning med stigende konsentrasjon av det ene metallionet fra kolonne 3 til 12. Radene E, F, G og H ble behandlet tilsvarende med det andre metallionet. Kolonne 1 og 2 ble tilført ren næringsløsning. Radene D og E ble tilført sterile 0,2 % maltagarsylindre som kontroll (fig 2.6).

De innledende forsøkene ga indikasjon på at metallionene kunne grupperes i giftighets kategorier. Derfor ble det nå benyttet tre ulike konsentrasjoner som utgangspunkt for forynningsrekkene;

$$[M]_{\text{maks}} \cdot (3/5)^k, k \in \{0,1,2,\dots,9\} \quad (2)$$

alltid med høyeste konsentrasjon i kolonne 12 og avtagende konsentrasjoner mot venstre. Høyeste konsentrasjon for Al^{3+} , HAsO_4^{2-} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Hg_2^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{3+} og Zn^{2+} ble satt til 10 mM. Høyeste konsentrasjon for Be^{2+} , Cr^{3+} , Ni^{2+} og Sn^{2+} ble satt til 40 mM. Høyeste konsentrasjon for Mg^{2+} og Mn^{2+} ble satt til 800 mM.

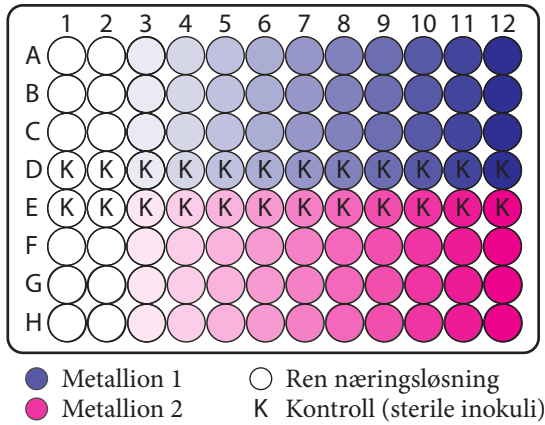
I den generelle resultatdelen er første forsøk i stor skala presentert i tre linjediagram, hvor responsen for hvert metall er fremstilt grafisk ifølge

$$\frac{\sum_{i=1}^n (a_e - a_f)_{[M]_{\text{maks}} \cdot (3/5)^k}}{n} - \frac{\sum_{i=1}^m (c_e - c_f)_{[M]_{\text{maks}} \cdot (3/5)^k}}{m} \cdot 100$$

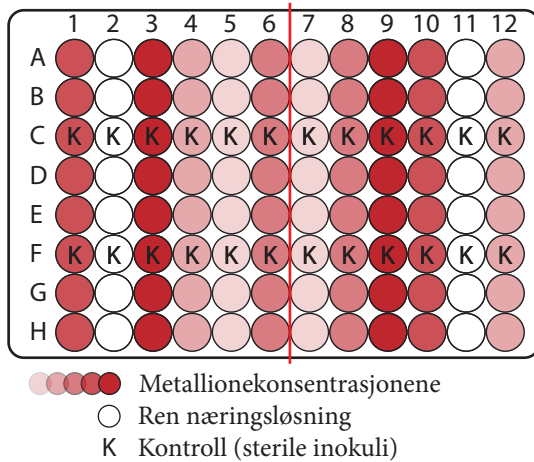
$$\frac{\sum_{i=1}^p (a_e - a_f)_{[M]_0}}{p} - \frac{\sum_{i=1}^q (c_e - c_f)_{[M]_0}}{q}$$

$$k \in \{0,1,2,\dots,9\} \quad (3)$$

hvor $(a_e - a_f)$ gir absorpsjonsøkningen i inokulerte brønner i løpet av inkubasjonstiden for en brønn med en gitt metallkonsentrasjon ($[M]_{\text{maks}} \cdot (3/5)^k$), eller ren maltløsning ($[M]_0$). Videre gir $(c_e - c_f)$ absorpsjonsøkning i kontrollbrønner (sterile brønner) med de samme metallionkonsentrasjonene og ren maltløsning. Forsøksoppsettet ga $n=3$ for hvert metallion (A, B og C, eller F, G og H), $m=1$ (D eller E), $p=6$ (A1, A2, B1, B2, C1, C2, eller F1, F2, G1, G2, H1, H2) og $q=2$ (D1 og D2, eller E1 og E2) (fig 2.6).



Figur 2.6 Forsøksoppsett for mikrotiterplatene i første storskalaforsøk.



Figur 2.7 Forsøksoppsett for mikrotiterplatene i andre storskalaforsøk.

Andre storskalaforsøk

I dette oppsettet ble en mikrotiterplate benyttet for hvert metallion. Fortynningsrekken (1) ble benyttet som

$$[M]_{\text{maks}} \cdot (3/5)^k, k \in \{0,1,2,3,4\} \quad (4)$$

som sammen med ren næringsløsning, ga 6 ulike konsentrasjoner. Plasseringen av kolonnene med disse konsentrasjonene ble trukket tilfeldig fra 1 til 6 og en gang til fra 7 til 12. Trekkingen av kolonne 1 til 6 ble gjort uavhengig av kolonne 7 til 12. Kontrollradene (C og F) ble ikke inokulert, men tilsatt sterile agarsylindre (Fig 2.7). Resultatet fra første storskalaforsøk rettferdiggjør inndelingen av metallionene i grupper, men viser samtidig behovet for å øke antallet giftighetskategorier fra tre til fire (se *generelle resultater*).

En stor flaske med 7 liter 1,5 % maltløsning ble autoklavert og satt til bunnfelling i en uke, før den ble benyttet i samtlige løsninger. Seksten 250-milliliters og tre en-liters erlenmeyerkolber ble grundig vasket og autoklavert en gang med destillert vann. Kolbene ble deretter tørket i varmeskap og tilsatt metallsaltene ifølge vekttabellen (tabell 2.1). Henholdsvis 1 cl, 1 dl og 0,5 l av den bunnfelte maltløsningen ble tilsatt de respektive kolbene før ny autoklavering. pH ble målt med en *601-digital ionanalyser (ORION RESEARCH)* i de ulike stamløsningene. I tillegg til pH-verdiene i tabellen, ble pH i tre parallelle maltløsninger målt til henholdsvis 4,42, 4,54 og 4,43. Løsningene med Mg^{2+} , Mn^{2+} og kontrollsaltene; $NaNO_3$, Na_2SO_4 og $NaCl$ ble tillaget i for små volumer til at pH lot seg måle. Fortynningsrekkene ble satt opp i autoklaverte eppendorfrør i spesiallagde stativ. Fortynningene ble utført ved hjelp av en programmerbar, åttekanals motorpipette (*Electrapette EXP®, item no. 8004*), med tilhørende styringsenhet (*Multi-Electrapette desk terminal, item no. 8000*) (Matrix Technologies Corp.).

Følgende fortynninger ble laget for de fire toksisitetskategoriene (mM):

Lite toksiske; 1000 - 600 - 360 - 220 - 130,

Svakt toksiske; 12,0 - 7,2 - 4,3 - 2,6 - 1,6,

Toksiske; 1,56 - 0,93 - 0,56 - 0,33 - 0,20,

Meget toksiske; 0,20 - 0,12 - 0,07 - 0,04 - 0,03.

Overføringen av løsningene fra eppendorfrør til inokulerte mikrobrønner, ble foretatt fra lav til høy metallionkonsentrasjon ved hjelp av samme motorpipette. Overføringen fra åtte eppendorfrør til åtte mikrobrønner skjer enkelt fordi avstanden mellom pipettespissene kan varieres med en hendel. Tecnomara AG(Sveits) oppgir nøyaktigheten til motorpipetten å være $\pm 0,6\%$ eller $3,0\ \mu\text{l}$ og reproduserbarheten til $\pm 1,5\%$ eller $6,0\ \mu\text{l}$. Inokulering og tilsetning av metalløsninger og registrering av initiell absorpsjon ble utført fortløpende over en tredagersperiode. Etter ti dager i kulturskap ($20\ ^\circ\text{C}$), ble absorpsjonen målt i løpet av en ny tredagersperiode. Målingene ble utført i samme rekkefølge som før inkubasjonen. Resultatet fra andre storskalaforsøk er fremstilt grafisk ifølge (2), med $n=p=12$ og $m=q=4$.

For mer detaljerte studier av resultatene, er gjennomsnittlig absorpsjonsøkning med standardavik og gjennomsnittlig absorpsjonsøkning for tilhørende kontrollbrønner presentert i stolpediagram for hvert enkelt metallion (se *generelle resultater*).

Forsøksoppsett for undersøkelse av surhetsgradens betydning

Med utgangspunkt i en autoklavert 1,5 % maltløsning ble det laget næringsløsninger med hele pH-verdier fra 2 til 12. Under sterile betingelser ble først halvparten av maltløsningen tilsatt stadig økende mengder H_2SO_4 under

Tabell 2.1 Løsninger brukt i andre storskalaforsøk.

| Lite toksiske | mM | mg salt/cl | |
|---------------------------------|------|---------------|------|
| NaNO ₃ | 1000 | 849,90 | |
| Na ₂ SO ₄ | 1000 | 1420,40 | |
| NaCl | 1000 | 584,40 | |
| Mg ²⁺ | 1000 | 2464,80 | |
| Mn ²⁺ | 1000 | 1960,20 | |
| Svakt toksiske | mM | mg salt/dl | pH |
| Be ²⁺ | 12,0 | 212,57 | 3,28 |
| HAsO ₄ ²⁻ | 12,0 | 374,41 | 6,25 |
| Zn ²⁺ | 12,0 | 345,05 | 4,44 |
| Toksiske | mM | mg salt/dl | pH |
| Al ³⁺ | 1,56 | 49,02 | 3,08 |
| Pb ²⁺ | 1,56 | 51,51 | 3,14 |
| Cu ²⁺ | 1,56 | 38,83 | 3,32 |
| Fe ²⁺ | 1,56 | 58,79 | 3,11 |
| Fe ³⁺ | 1,56 | 42,04 | 2,82 |
| Ni ²⁺ | 1,56 | 40,88 | 4,24 |
| Cr ³⁺ | 1,56 | 38,90 | 2,83 |
| Sn ²⁺ | 1,56 | 35,09 | 2,93 |
| Meget toksiske | mM | mg salt/0,5 l | pH |
| Cd ²⁺ | 0,20 | 25,85 | 4,42 |
| Hg ²⁺ | 0,20 | 82,28 | 4,16 |
| Hg ²⁺ | 0,20 | 34,35 | 3,90 |

omrøring (magnetrorer), mens pH ble målt kontinuerlig (601-digital ionanalyser (ORION RESEARCH)). For hver oppnådde verdi ble det pipettert ut en tilstrekkelig mengde næringsløsning. Til den andre halvparten av maltløsningen ble det tilsatt økende mengder NaOH på samme måte. En inokulert mikrotiterplate ble tilført løsningene etter et tilfeldig mønster og ellers behandlet som mikrotiterplatene i *andre storskalaforsøk*. En av kolonnene ble tilsatt ren maltløsning (pH 5,33). Radene C og D ble tilført mycelfrie agarsylindre som kontroll.

Virkningen av pH er fremstilt grafisk ifølge

$$\frac{\sum_{i=1}^n (a_e - a_f)_{\text{pHk}}}{n} - \frac{\sum_{i=1}^m (c_e - c_f)_{\text{pHk}}}{m}, \quad k \in \{2,3,\dots,12\} \quad (5)$$

med $n=6$ og $m=2$ (se *generelle resultater*).

Utvikling av sammenlikningskriterium, IC_{75}

Et innlysende krav til en til en god metode for mycelvekstkvantifisering, er stor grad av reproducerbarhet. I tillegg bør resultater også være sammenliknbare mellom ulike prosjekter. Mikroplatteteknikken kan enkelt danne grunnlag for en indeks kalt $\Sigma\%RGB$ (Snowden & Wheeler, 1993; Høiland, 1994), hvor den gjennomsnittlige relative veksthastigheten i prosent for hver konsentrasjon av et bestemt ion summeres. Indeksen gir kun tilfredstillende sammenlikningsgrunnlag dersom samme fortynningsrekke og konsentrasjoner benyttes i de undersøkelsene som skal sammenliknes. Denne ulempen kan til en viss grad omgås ved å multiplisere opp $\Sigma\%RGB$ med de korresponderende giftkonsentrasjonene, men jeg har funnet det hensiktsmessig med en mer toksikogifaglig tilnærming til utvikling av indeks:

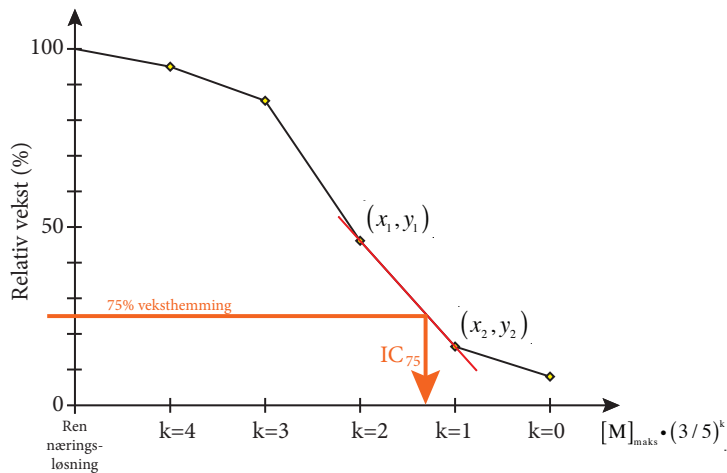
LD_{50} (*lethal dose 50 %*) (Trevan, 1927) er trolig den mest brukte indeksen når graden av respons i et biologisk system skal relateres til mengden av tilført gift. LD_{50} er den statistisk beregnede engangsdoseringen av et stoff som kan forventes å forårsake død hos 50 % av organismene. I toksikologiske undersøkelser med dyr, er det vanlig å betrakte LD_{50} verdier som den mengden av et stoff eller en forbindelse som dreper halvparten av individene i en forsøksserie (Lichfield & Wilcoxon, 1949). Stoffet som undersøkes, blir gjerne administrert peroralt eller intraperitonealt. ED_{50} (*effective dose 50 %*) er et alternativ til LD_{50} , for eksempel når responsen er noe annet enn død. For toksikologiske undersøkelser med soppmycel er LD_{50} lite hensiktsmessig. Dette fordi *individbegrepet* oftest er meningsløst i mykologisk sammenheng, og fordi det er problematisk å administrere giftstoffet i form av en *engangsdosering*. Den toksikologiske responsen som måles gjennom mikroplatteteknikken her, er ikke basert på antall døde individer, men *redusert veksthastighet* i forhold

til en kontroll. Metallionene som undersøkes blir tilsatt næringsløsningen, og ikke hyfene direkte. En alternativ indeks som benyttes på dyr som utsettes for giftstoffer i luften eller vannet de lever i, er LC_{50} (*lethal concentration 50 %*). Der estimeres den konsentrasjonen av et giftstoff som forårsaker død hos halvparten av individene. Etter min vurdering er LC_{50} hensiktsmessig i mykologisk sammenheng dersom toksisitet registreres gjennom fraksjonen av sporer som spirer, men ikke ved undersøkelse av *veksthastighet* i mycel. For å registrere endring i veksthastighet i mycel, er det behov for en indeks som tar utgangspunkt i veksthemming. IC_{50} (*inhibitory concentration 50 %*) gir konsentrasjonen som halverer eksempelvis veksthatighet, reaksjonshastighet for et enzym, eller liknende. Det er mulig å bruke andre LD/ED/LC/IC verdier enn den som gir respons hos 50% av forsøksdyrene. LD_{10} , LD_{20} og så videre er mengden av et stoff som vil forårsake død hos 10 %, 20 % og så videre blant individene, og tilsvarende sammenheng vil det også være for de alternative indeksene. På grunn av biologisk variasjon vil dose-respons sammenhengen være normalfordelt. Normalfordelingen favoriserer bruken av LD_{50} fremfor andre LD-verdier fordi det gir det smaleste konfidensintervallet (Bliss, 1935). For sammenlikning av resultatene med de ulike metallionene fra andre storskalaforsøk, har jeg utarbeidet følgende forslag til indeks:

75% veksthemmingskonsentrasjon (IC_{75}) er den estimerte konsentrasjonen gitt i mM som reduserer veksthastigheten til 25% av veksthastigheten i ren næringsløsning.

$$IC_{75} = x_1 + \frac{25(x_2 - x_1) - y_1(x_2 - x_1)}{y_2 - y_1} \quad (6)$$

hvor x_1 og x_2 er konsentrasjonene over og under den konsentrasjonen som trolig ville gitt 75% veksthemming, y_1 og y_2 er relative vekstverdier for henholdsvis x_1 og x_2



Figur 2.8 Grafisk fremstilling av IC_{75} .

ifølge (2), med k korresponderende til disse to verdiene.

IC_{75} er derfor den beregnede konsentrasjonen av et stoff som ut ifra en rett linje gjennom punktene over og under 25% relativ vekst, gir 25% relativ vekst (fig 2.8).

Relativ vekstverdi etter (2) er ikke normalfordelt, men har en distribusjon som gjør at 75 % veksthemmingskonsentrasjon gir større resultatmessig oppløslighet enn 50 % veksthemmingskonsentrasjon (IC_{50}). Jeg har også sett på muligheten for å bruke *regresjon* til å gi bedre estimat for IC_{75} (se *diskusjon*).

Sammenhengen mellom elektronegativitet og toksisitet

For sammenlikning med andre arbeider som er gjort med sopp og tungmetaller, har jeg undersøkt sammenhengen mellom elektronegativitet og toksisitet (Danielli & Davies, 1951; Somers, 1961). Dette er gjort som

$$\log IC_{75_{M^{q+}}} = \alpha - \gamma e^{-0.25 \cdot x^2} \quad (7)$$

hvor er 75 % veksthemmingskonsentrasjon for metallion med ladning $q+$, α og γ er konstanter og x er differansen i elektronegativitet mellom metallet og oksygen.

Metode for morfologiske studier av initiell veksthemming

Metoden for morfologistudier er basert på en gammel metode (Kuhner, 1945)¹. En tynn kolloidiumfilm plasseres over et aktivt voksende mycel på et objektglass. Mycelet ligger i en dråpe næringsløsning og blir tvunget til å vokse mellom kolloidiumfilmen og objektglasset i et tynt lag. Ideelt sett blir mycelet kun ett hyfelag tykt. Morfologien undersøkes enkelt i et lysmikroskop. Her er mycelet undersøkt etter en vekstperiode med påfølgende fiksering i kvikksølvklorid, men metoden kan enkelt utvikles for kontinuerlige mycelvekststudier (f. eks time lapse).

Metoden er ikke, såvidt jeg kjenner til, tidligere brukt til *kvantifisering* av mycelvekst. Likevel viser den seg å fungere lovende også til dette formålet. Teknikken gjør det mulig å studere veksthastighet ved nykolonisering av et substrat, fra mycel slik som her, eller fra sporer som spirer. Teknikken kan betraktes som en mellomting mellom tradisjonelle radialvekstforsøk og flytekulturstudier, en *todimensjonal flytekultur*.

Tilpasning av kolloidiumfilmer

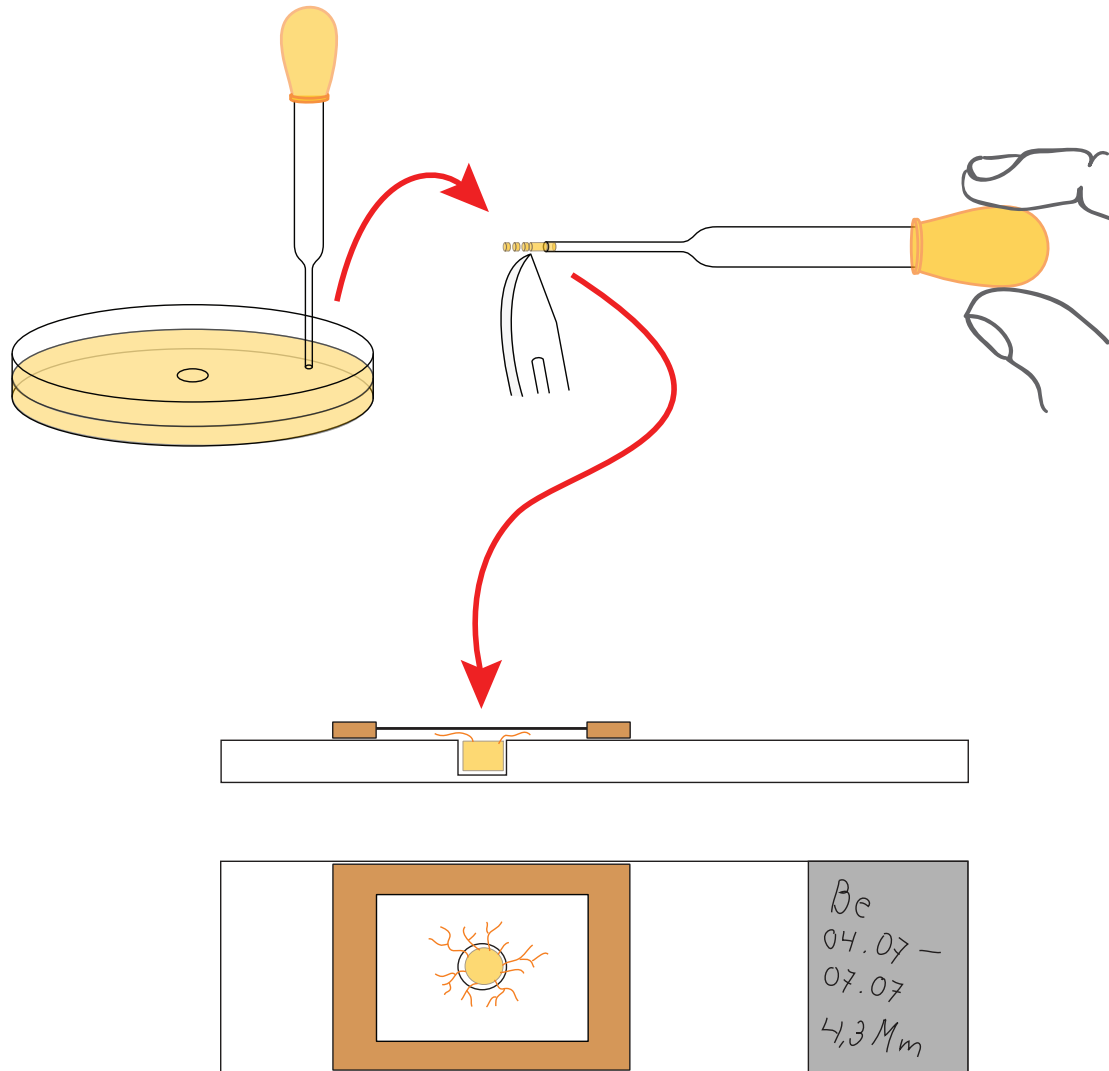
Kolloidiumfilmene ble laget fra en 4 % kolloidiumoppløsning (a/s Den Norske Eterfabrikk) som inneholder 4 % nitrocellulose, 20-30 % etanol og 65-75 % dietyler. For å lette håndteringen av filmene ble de laget med papirrammer av vanlig ubleket skrivepapir. Rammene ble gjort kvadratiske med utvendig bredde 2,5 cm, og innvendig bredde 2 cm. Papirrammene ble fuktet med 70 % etanol og lagt på rene objektglass. Deretter ble de tilført et tynt lag kolloidiumoppløsning ved hjelp av en pasteurpipette. Etter en kort tørkeperiode ble rammene med kolloidiumfilmene vasket av objektglassene med 70 % etanol og overført til et

oppbevaringsglass med 70 % etanol.

Inokulerings-, inkubasjons- og fikseringsteknikk

Det ble benyttet spesialtilpassete objektglass med en utfreset grop (ca 2,5 mm diameter) til forsøkene. Dette tillater bruken av gjennomvokste agarskiver som inokuli. Agarsylindre (1,5 mm diameter) ble stanset ut rett innenfor vekstsonen i petriskåler ved hjelp av en steril pasteurpipette. Under lupe ble det fra agarsylindrene skåret av 0,5 mm tykke skiver med en steril skalpell. Skivene ble benyttet til å inokulere gropene i objektglassene. Gropene i objektglassene ble dekket av en dråpe (40 µl) testløsning. Kolloidiumfilmene ble skylt tre ganger i destillert vann og en gang i testløsningen før de ble plassert på objektglasset (fig 2.9). Et petriskållokk fra en liten petriskål (5 cm) ble snudd opp ned i bunnen på en vanlig petriskål (9 cm). Objektglasset ble plassert oppå dette. Den største petriskålen ble så tilsatt 4 ml sterilt vann, før lokket ble lagt på og forseglet med parafilm. Dette gir tilstrekkelig luftfuktighet for mycelvekst. Petriskålene ble oppbevart i kulturskap ved 20 °C og kontrollert daglig med tanke på vekst. Etter hvert som objektglassene hadde tydelig påvekst av mycel (ca 5 mm fra inokulum) ble de tatt ut av petriskålene for fiksering. Fikseringen ble utført med en dråpe mettet kvikksølvkloridløsning på den delen av kolloidiumfilmen som dekket mycelet. Kolloidiumfilmene er permeable for kvikksølvkloridløsningen, slik at mycelet blir fiksert *in situ*.

¹ Det har så langt ikke latt seg gjøre å verifisere referansen



Figur 2.9

Små agarsylindere med mycel anbringes i en utfreset grop i objektglasset. En tynn kollodiumfilm tvinger det voksende mycelet ned mot objektglassets overflate.

Forsøksoppsett for morfologiforsøk

Etter noen innledende forsøk ble det valgt en konsentrasjon for hver toksisitetsgruppe. Valget ble gjort på bakgrunn av data fra *andre storskalaforøk* (optisk registrering av mycelvekst). De valgte konsentrasjonene var de høyeste innen hver gruppe hvor det var mulig å påvise vekst hos alle metallionene innen gruppen (se *generelle resultater*). Som inokuleringsagar ble det benyttet 1,5 % maltagar. Dette ble gjort som et forsøk på å sikre tilstrekkelig tetthet av hyfer i agarskivene til å gi sikker inokulering av testløsningene. Løsninger som ble benyttet, er samlet i tabellen nedenfor (tabell 2.2). Kolbene ble grundig rengjort, autoklavert med destillert vann og tørket i varmeskap før saltene ble veiet og tilsatt. Autoklavert og bunnfelt maltløsning (1,5 %) ble så tilsatt før ny autoklavering.

Målemetode for initiell veksthastighet

Med kolloidiumfilmene intakt, ble objektglassene med mycelet plassert på kondensorholderen i et Zeiss fotomikroskop uten objektivrevolver og kondensor. Når mikroskopet benyttes på denne måten, foretas fokusering ved hjelp av skarpstillingen (Bertramslinsen) til fasekontrastkikkerten i tubus. Hyfespissene og kanten på gropene i objektglassene ble avtegnet ved bruk av tegnespeil. For riktig målestokk ble det på hver figur også tegnet inn en eller to millimeterstreker. De ferdige tegningene ble deretter scannet som strektegning ved hjelp av en gråtonescanner (*OneScanner*, Macintosh), koplet opp mot en *Powerbook 140* (Macintosh) med styringsprogram (*Ofoto 1.0.1*, Light Source Computer Images Inc). Bildene ble deretter overført til et tegneprogram (*Canvas 2.1*, Deneba Software) som kan beregne arealet til manglekanter. Det ble derfor tegnet inn en manglekant gjennom de ytterste hyfespissene langs ytterkanten av mycelet (fig 2.10).

Tegneprogrammet ble også benyttet til å beregne lengden

av millimeterstreken, og omkrets og areal for gropen i objektglasset. Alle måleverdiene er tatt med i *appendiks*. På grunn av ulik vekstperiode for de ulike metallsaltene, ble måleresultatene sammenliknet som gjennomsnittlig veksthastighet, \bar{v} (mm·døgn⁻¹) for hvert enkelt objektglass:

$$\bar{v} = \frac{\sqrt{\frac{Ar}{\pi}} - 0,75}{t_1 - t_0} \quad (6)$$

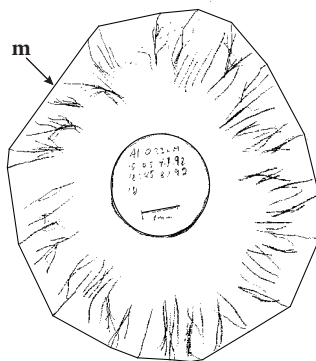
hvor Ar er arealet til manglekanten rundt mycelet (fig 2.10) i cm² på tegningen, l er lengden på millimeterstreken (cm) på tegningen og $t_1 - t_0$ er vekstperiodens varighet i døgn. I formelen blir det trukket fra 0,75 (mm) som tilsvarer radien til inokuleringsskivene.

For sammenlikning av de ulike metallionene med tanke på toksisitet, ble veksthastigheten multiplisert med metallionkonsentrasjonen ($\bar{v} \cdot [M]$).

Tabell 2.2

Løsninger og konsentrasjoner som ble benyttet til registrering av initiell veksthastighet og morfologiske studier.

| Lite toksiske | mM | mg/cl |
|---------------------------------|-----------|---------------|
| Mg ²⁺ | 220 | 542,3 |
| Mn ²⁺ | 220 | 431,2 |
| Svakt toksiske | mM | mg/dl |
| Be ²⁺ | 4,3 | 76,2 |
| HAsO ₄ ²⁻ | 4,3 | 134,2 |
| Zn ²⁺ | 4,3 | 123,6 |
| Toksiske | mM | mg/dl |
| Al ³⁺ | 0,33 | 10,4 |
| Pb ²⁺ | 0,33 | 10,9 |
| Cu ²⁺ | 0,33 | 8,2 |
| Fe ²⁺ | 0,33 | 12,5 |
| Fe ³⁺ | 0,33 | 8,9 |
| Ni ²⁺ | 0,33 | 8,7 |
| Cr ³⁺ | 0,33 | 8,3 |
| Sn ²⁺ | 0,33 | 7,5 |
| Meget toksiske | mM | mg/5dl |
| Cd ²⁺ | 0,04 | 5,1 |
| Hg ₂ ²⁺ | 0,04 | 5,6 |
| Hg ²⁺ | 0,04 | 6,9 |



Figur 2.10

Eksempel på kvikksølvfiksert mycel, avtegnet vha tegnespeil. Mangekanten (**m**) er inntegnet i tegneprogrammet for å muliggjøre arealberegning.

Metode for undersøkelse av lang tids veksthemming

For å undersøke i hvilken grad *L. multifforme* endrer veksthastighet under metallpåvirkning over lengre tid, ble det benyttet næringsmedium tilsatt agarose.

Utvikling av vekstrør

Til vekstforsøkene ble det benyttet 17 cm lange glassrør med en innvendig hul agarosesylinder, tilsatt næringsløsning med passende metallionkonsentrasjon. Agarose ble valgt i stedet for vanlig agar, fordi den gir fastere konsistens.

Maltagarosen ble fremstilt av bunnfelt 1,5 % maltløsning (Moss malteextraktfabrik) og 1,5 % agarose (Sigma).

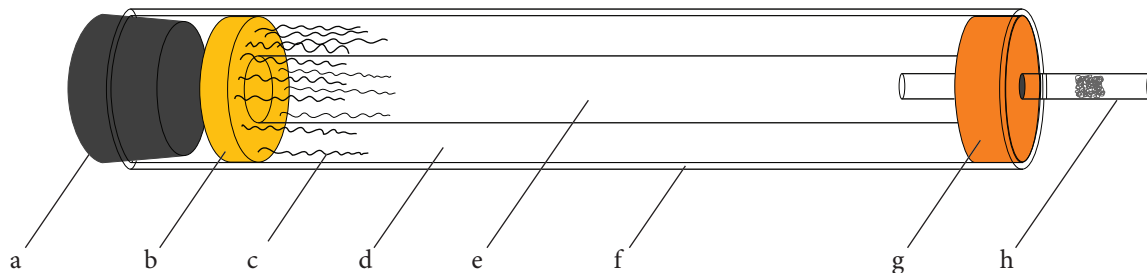
Metallsaltene ble veiet i kolbene og autoklavert (121 °C) før tilsetning av autoklavert maltagarose (i sterilbenk). Kolbene ble grundig rystet før agaroseløsningene ble fordelt på sine respektive (autoklaverte) vekstrør. Agarosesynderene får hul kjerne når agarosen helles rundt et tynnere glassrør som fjernes etter at agarosen er stivnet. For at dette tynnere glassrøret lettere skulle slippe agarosen, ble det før autoklaving satt inn med glyserol. Rørene med agarosesynder ble merket med tilfeldige nummer før inokulering. Det ble brukt skiver med passende diameter fra gjennomvokste agarskåler (1,5 % maltagar) som inokuli. Etter inokulering ble rørene forseglet med en autoklavert gummipropp. Gummiproppen (gasslangeskive) i motsatt ende av røret ble utstyrt med et gjennomgående tynt glassrør. Glassrøret var plagget igjen med en steril bomulldott for å sikre steril tilgang på oksygen (fig 2.11). Rørene ble oppbevart i kulturskap (20 °C) gjennom hele vekstperioden.

Utvikling av teknikk for registrering av resultater

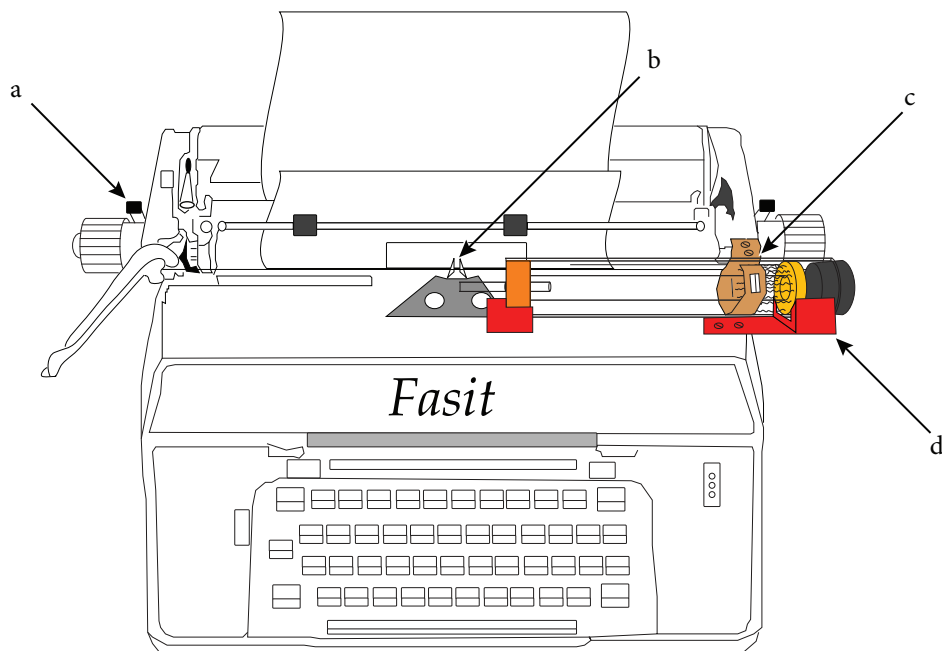
For å sikre nøyaktig avlesning, ble det laget et stativ som passer til vekstrørene. Stativet ble montert på en vanlig mekanisk skrivemaskin (fig 2.12). En sikteanordning med en tynn vertikal strek på hver side av vekstrøret, ble fastmontert på skrivevalseholderen på skrivemaskinen. Ved avlesning fristilles valsen slik at denne kan justeres sidelengs til de to siktelinjene faller på linje med den fremste hyfespissen i vekstrøret. Vekstresultatene ble overført til et millimeterpapir ved hjelp av bokstaven stor i (I). Millimeterpapiret ble stående i skrivemaskinen gjennom hele forsøket. Hvert vekstrør fikk sin egen skrivelinje. Stativet var forsynt med et anlegg for enden av røret, slik at dette fikk samme posisjon for hver avlesning.

Forsøk med svake toksiske effekter

Løsninger ble tillaget som for *morfologi og initiell veksthemming* (tabell 2.2) for gruppen svakt toksiske metaller, men ble tilsatt flytende maltagarose i stedet for ren maltløsning. Forsøket ble gjennomført med tre parallelle rør med 4,3 mM Be²⁺, tre parallelle rør med 4,3 mM Zn²⁺, tre parallelle rør med 4,3 mM HAsO₄²⁻ og tre parallelle rør uten metalliontilsetninger.



Figur 2.11 Vekstrør. a: gummipropp, b: inokulum, c: hyfe, d: agarosesylinder, e: luft, f: glassrør, g: gasslangeskive, h: glassrør med bomull



Figur 2.12 Vekstrør montert for avlesning. a: Fristillingsspak for valsen, b: Stor i (I) benyttes som markering av vekstdistanse, c: Siktemiddel fastmontert på valsen.

GENERELLE RESULTATER

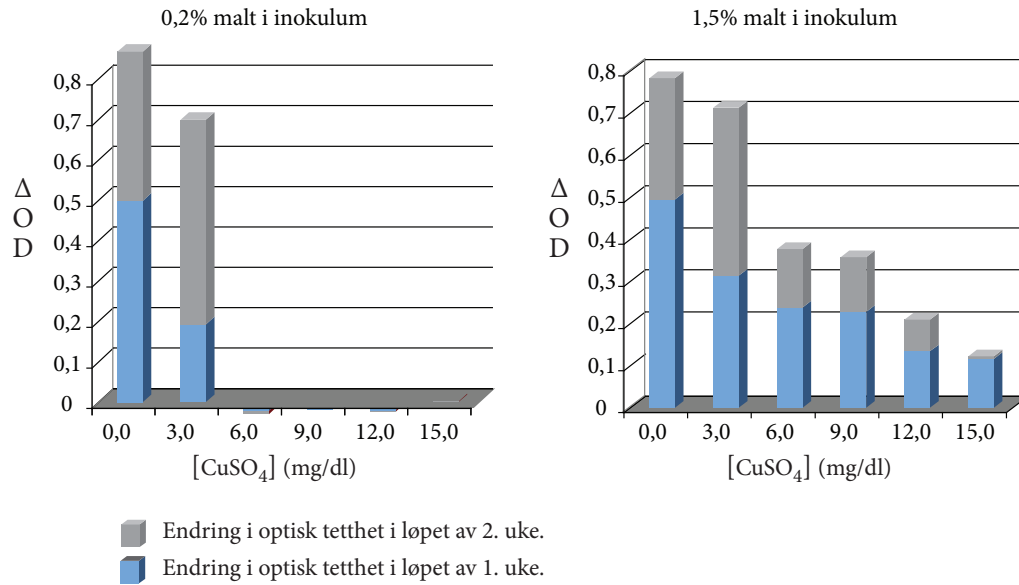
Optisk registrering av mycelvekst

Virkningen av malkonsentrasjon i inokuleringsagaren

Figuren under (fig 3.1) gjengir resultater fra et innledende mikroplateforsøk med kobbersulfat. Brønnene her er inokulert med agarsylindre som med henholdsvis 0,2 % og 1,5 % malt. Endring i optisk tetthet ble målt etter en og to uker. Malkonsentrasjonen i inokuleringsagaren ser ut til å ha liten betydning for veksthastigheten i brønner med lavere konsentrasjon av kobbersulfat enn 3 mg/dl, men for høyere kobbersulfatkonsentrasjoner ser det ut som om mycelet fra inokuli med lav malkonsentrasjon blir sterkere hemmet. Forsøket er kun å regne som et pilotforsøk, men understreker at det er viktig å standardisere inokuli.

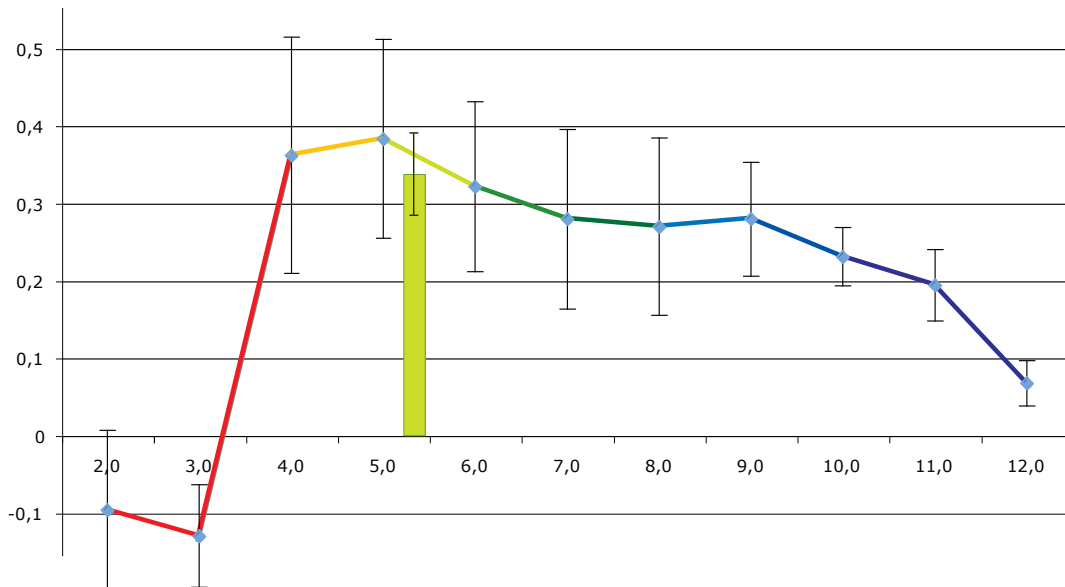
Betydningen av pH i næringsløsningen

L. multifforme ser ut til å ha en nedre kritisk pH verdi på ca 3,5. Fra pH 9 vil økende pH medføre en tilnærmet lineær veksthemmende effekt. For metallioner som endrer pH-verdien i næringsløsningen til under 3,5 eller høyere enn 9, bør endring i surhetsgrad betraktes som en del av toksisiteten. Resultatene indikerer høyest veksthastighet ved svakt sure pH-verdier. Se *diskusjon* for mulige årsakssammenhenger.



Figur 3.1

Betydningen av inokuleringsagarens maltkonsentrasjon i mikroplateteknikken. Endring i OD som funksjon av økende CuSO₄-konsentrasjon, ved 0,2 % og 1,5 % malt i inokulum.



Figur 3.2

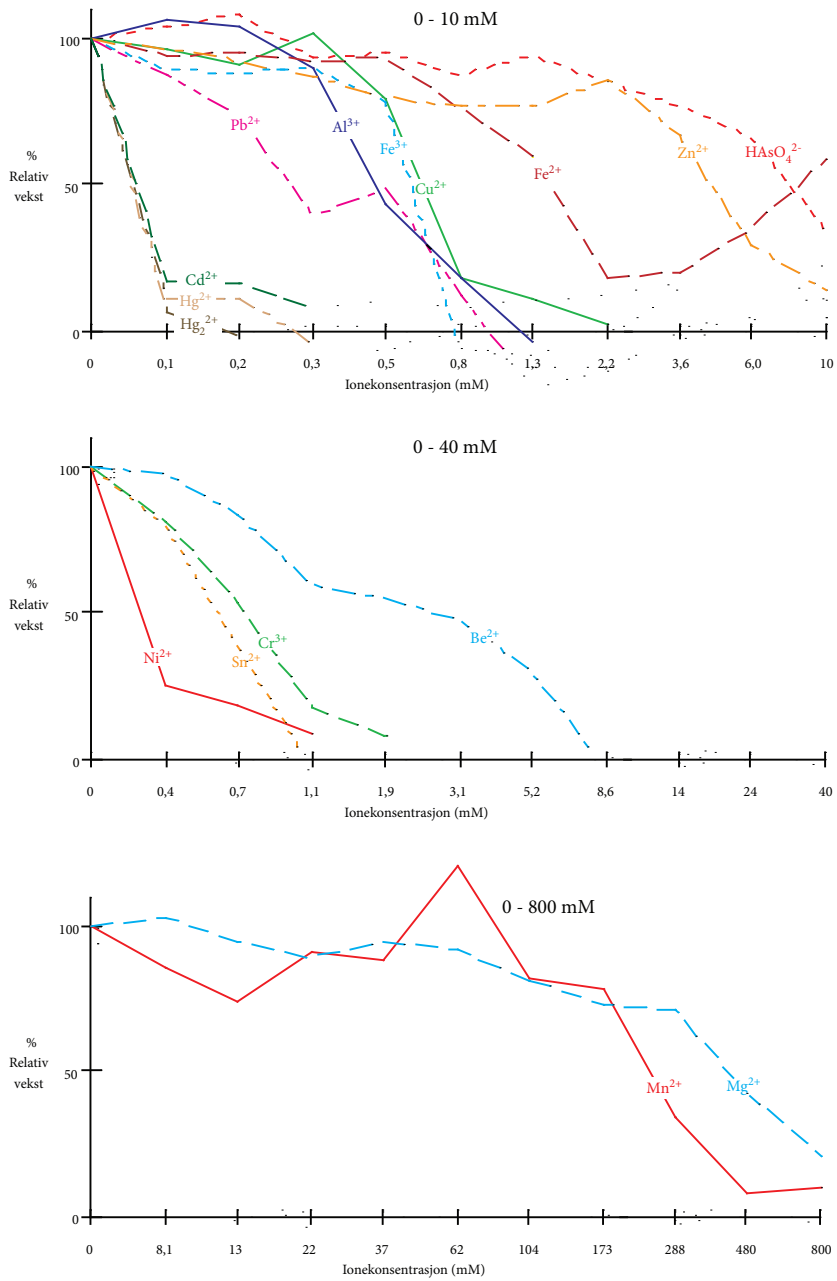
Betydningen av pH i næringsløsningen. Stolpen viser vekst i ren maltløsning (pH 5,33). Vertikale streker angir standardavvik.

Første storskalaforsøk

Resultatene fra første storskalaforsøk gjør det mulig å ordne metallionene i fire toksisitetsgrupper. Det første diagrammet (figur 3.3 - 0-10 mM) viser at Cd^{2+} , Hg_2^{2+} og Hg^{2+} gir en total veksthemming allerede ved 0,1-0,3 mM. Disse ionene ble derfor plassert i en egen gruppe, *meget toksiske*, og undersøkt videre i *andre storskalaforsøk* med 0,2 mM som høyeste konsentrasjon.

Figuren indikerer også at neste toksisitetsgruppe, *toksiske*, bestående av Pb^{2+} , Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} og Fe^{3+} , gir fullstendig veksthemmende effekt ved konsentrasjoner mellom 0,8 og 2,2 mM. Fe^{2+} skiller seg ut fra resten av gruppen, fordi den relative vekstkurven når et bunnpunkt omkring 2,2 mM, for så å stige raskt med økende ionekonsentrasjon. Det er svært usannsynlig at det finnes levende sopphyfer i brønner med mer enn 1,3 mM Fe^{2+} . "Veksten" skyldes derfor trolig utfelling. Det blir i hovedsak korrigert for dette fenomenet for de andre metallionene ved bruk av kontrollbrønner, jfr (3), men for Fe^{2+} tyder resultatene på at tilstedeværelse av døde hyfer gir betydelig kraftigere utfelling enn i kontrollbrønnene. Det er rent kjemisk ventelig at mye av det tilsatte Fe^{2+} oksiderer til Fe^{3+} og det er ikke urimelig at organisk materiale bidrar til å katalysere omdanningen. I tillegg til problemene med økning i optisk tetthet, vil dette dessuten skape problemer når det kommer til å anslå *toksisiteten* til Fe^{2+} isolert fra Fe^{3+} (se *diskusjon*). Den tredje gruppen, *svakt toksiske*, som består av Zn^{2+} og $HAsO_4^{2-}$, nådde ikke fullstendig veksthemming ved 10 mM. Høyeste konsentrasjon i andre storskalaforsøk for denne gruppen ble derfor øket til 12 mM. Figur 3.3 (0-40 mM) ser ut til å vise en fullstendig veksthemming for Ni^{2+} , Sn^{2+} og Cr^{3+} ved 1,1-1,9 mM. Disse ionene ble derfor flyttet til gruppen *toksiske* i andre storskalaforsøk. Be^{2+} synes i samme figur å gi fullstendig veksthemming først ved ca 8,6 mM, og ble derfor overført til gruppen *svakt toksiske*.

Figur 3.3 (0-800 mM) tyder på at Mn^{2+} gir fullstendig veksthemming ved 480 mM, mens Mg^{2+} fremdeles tillater svært begrenset vekst ved 800 mM. Mn^{2+} og Mg^{2+} ble derfor plassert i gruppen *lite toksiske*, med 1000 mM som høyeste konsentrasjon. Alle enkeltmålinger er tatt med i *appendiks*.



Figur 3.3

Relativ vekst fra første forsøk i stor skala. Standardavvik er utelatt av hensyn til lesbarheten til grafene.

Andre storskalaforsøk

Resultatene fra andre storskalaforsøk baserer seg på 3648 enkeltobservasjoner (jfr *appendiks*). Den første figuren (2.9), bekrefter at de undersøkte metallionene lar seg gruppere i fire toksisitetsgrupper, slik første storskalaforsøk indikerer. Gruppen *meget toksisk* består av Cd^{2+} og en- og toverdig kvikksølv. Disse ionene fører til fullstendig veksthemming ved konsentrasjoner fra ca 0,03 til 0,2 mM. Kadmunionet er i følge resultatene her så giftig at det kan rettferdiggjøres å plassere det i en egen toksisitetsgruppe (fig 3.4 - *Meget toksisk*).

Første storskalaforsøk antydte at Pb^{2+} , Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} og Fe^{3+} burde få følge av Ni^{2+} , Sn^{2+} og Cr^{3+} i gruppen *toksiske*. Resultatene fra andre storskalaforsøk synes å bekrefte dette fullt ut (fig 3.4 - *Toksisk*).

Første storskalaforsøk tydet på at sink og arsen skulle kunne gi fullstendig veksthemming ved 12 mM. Derfor ble gruppen *svakt toksiske* undersøkt med 12 mM som utgangspunkt for fortynningsrekka. Zn^{2+} svarer i så måte til forventningene, mens arsenforbindelsen med fordel kunne blitt prøvd ut med litt høyere makskonsentrasjon. Riktigheten av å flytte over Be^{2+} til denne gruppen bekreftes (fig 3.4 - *Svakt toksisk*).

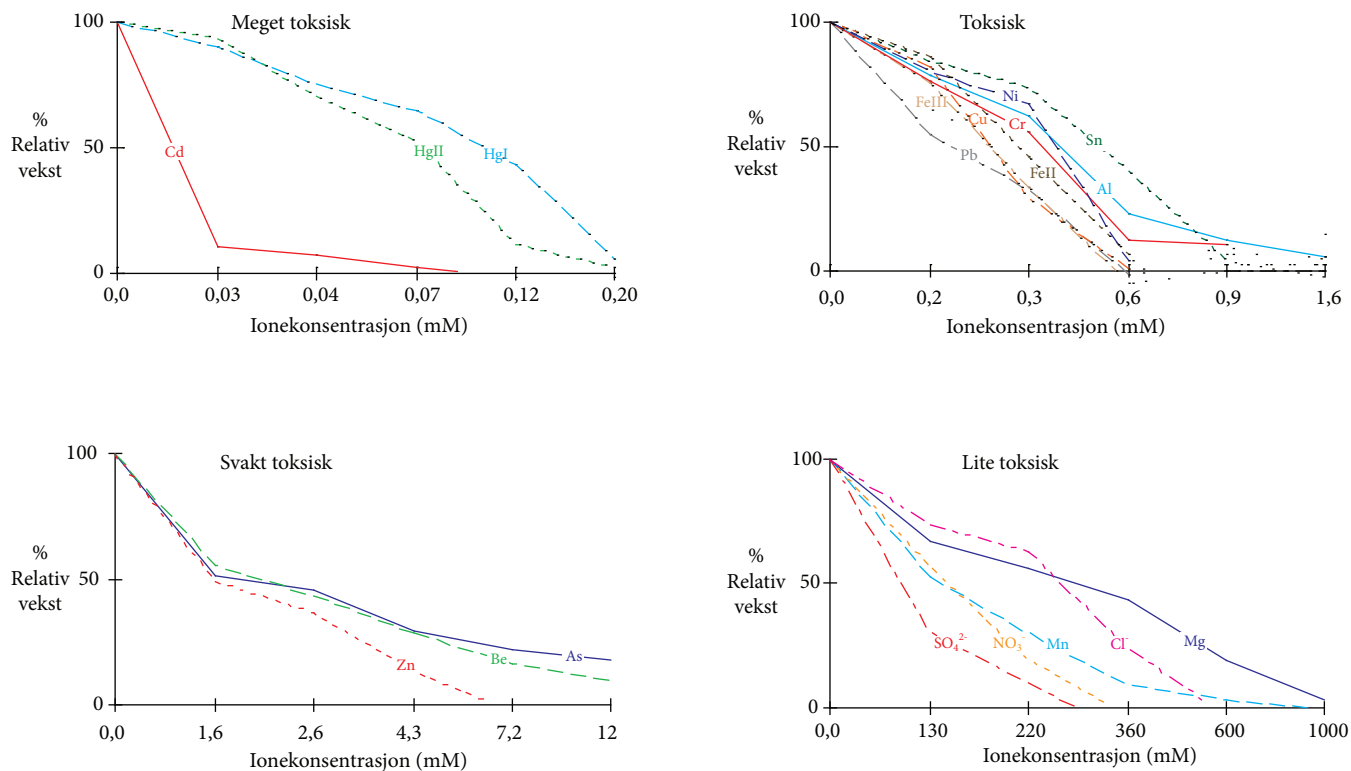
Mg^{2+} og Mg^{2+} ble undersøkt med 1000 mM som høyeste konsentrasjon. Samtidig ble også kontrollsaltene NaCl, NaNO_3 og NaSO_4 tatt med. Figuren (3.4 - *Lite toksisk*) bekrefter lav toksisitet for samtlige ioner i gruppen.

Sammenlikning av resultatene, IC_{75}

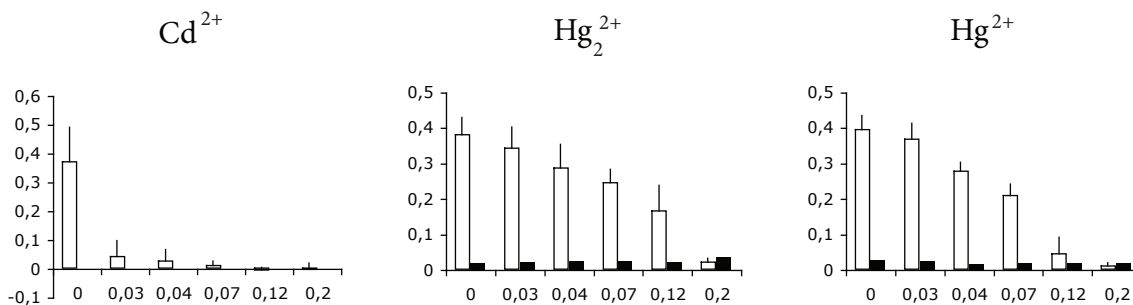
IC_{75} -verdiene utregnet i henhold til (6) gir et godt grunnlag for å sammenlikne ionenes toksisitet:

Tabell 3.1 IC_{75} verdier fra andre storskalaforsøk med optisk registrering av mycelvekst.

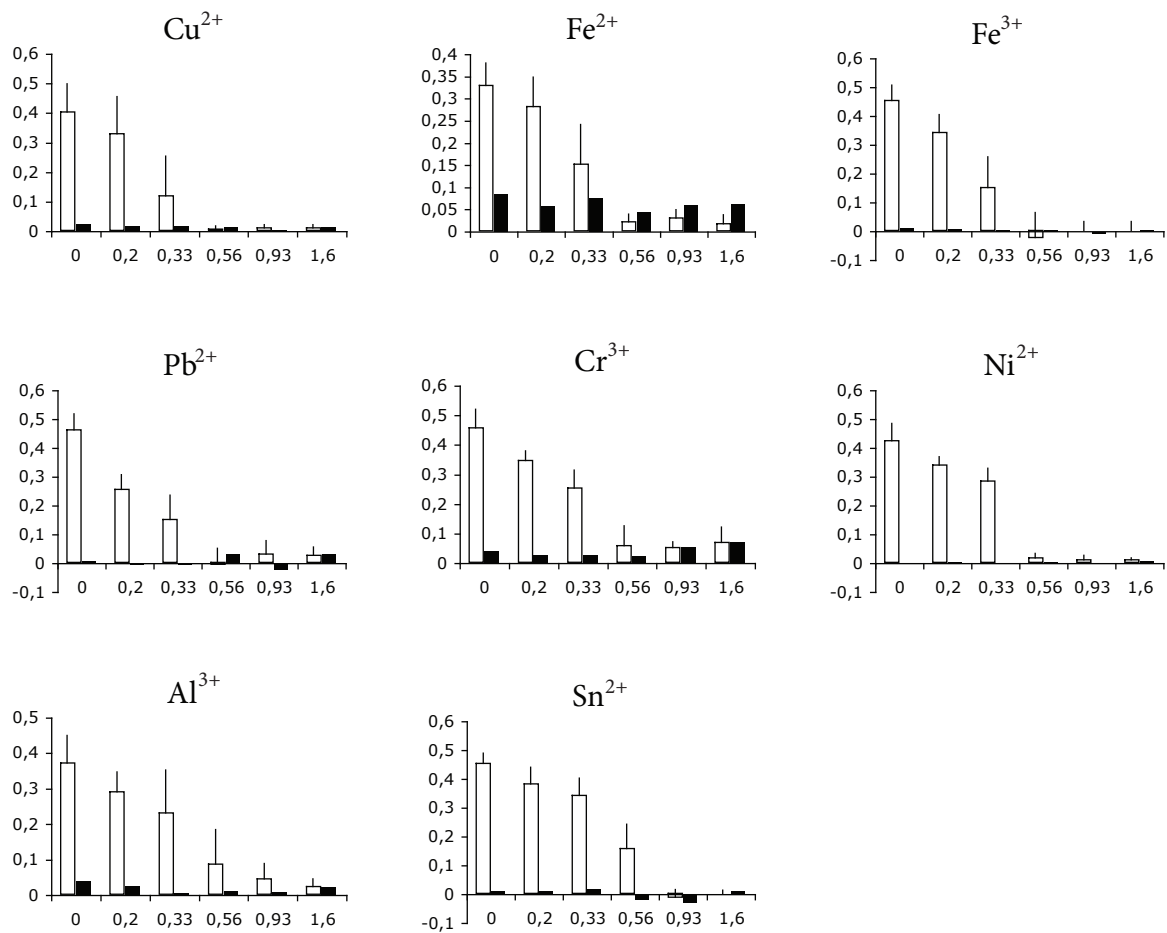
| Ion | IC_{75} (mM) |
|----------------------|-----------------------|
| Cd^{2+} | 0,025 |
| Hg^{2+} | 0,102 |
| Hg_2^{2+} | 0,138 |
| Cu^{2+} | 0,352 |
| Fe^{3+} | 0,376 |
| Pb^{2+} | 0,379 |
| Fe^{2+} | 0,413 |
| Ni^{2+} | 0,481 |
| Cr^{3+} | 0,483 |
| Al^{3+} | 0,546 |
| Sn^{2+} | 0,636 |
| Zn^{2+} | 4,23 |
| Be^{2+} | 4,61 |
| HAsO_4^{2-} | 4,78 |
| SO_4^{2-} | 155 |
| NO_3^- | 226 |
| Mn^{2+} | 252 |
| Cl^- | 353 |
| Mg^{2+} | 526 |



Figur 3.4 Relativ vekst fra andre forsøk i stor skala. Samlegrafene viser tydelig grupperingen i toksisitetskategorier. Legg merke til konsentrasjonsforskjellene på x-aksene. Ioneladningene er utelatt på metallionene.

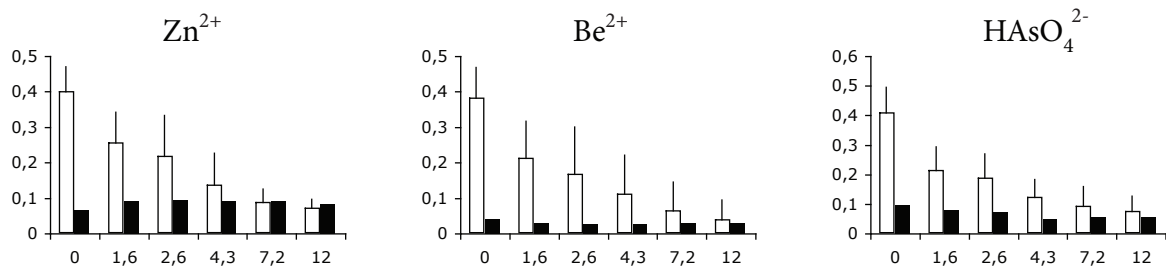


Figur 3.5 Stolpediagram for hvert av ionene i gruppen *meget toksisk*. Hvit stolpe med et standardavvik viser gjennomsnittlig endring i optisk tetthet, sort stolpe viser kontrollenes gjennomsnitt. (Cd²⁺ diagrammet mangler kontrollstolper fordi kontrollbrønnene feilaktig ble inokulert)



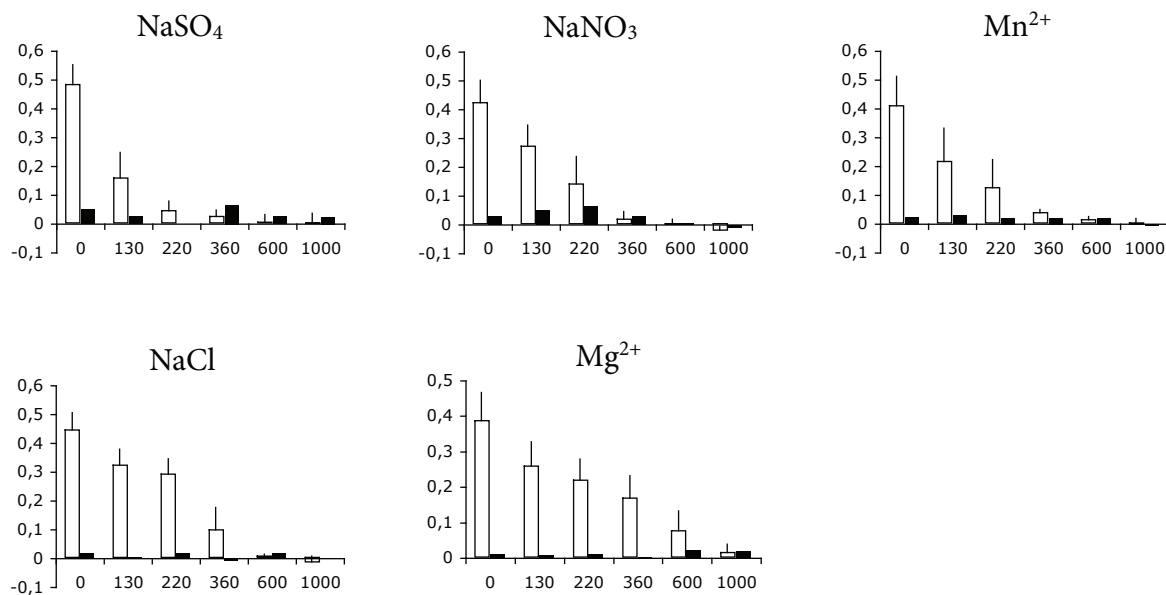
Figur 3.6

Stolpediagram for hvert av ionene i gruppen *toksisk*. Hvit stolpe med et standardavvik viser gjennomsnittlig endring i optisk tetthet, sort stolpe viser kontrollenes gjennomsntt.



Figur 3.7

Stolpediagram for hvert av ionene i gruppen *svakt toksisk*. Hvit stolpe med et standardavvik viser gjennomsnittlig endring i optisk tetthet, sort stolpe viser kontrollenes gjennomsntt.

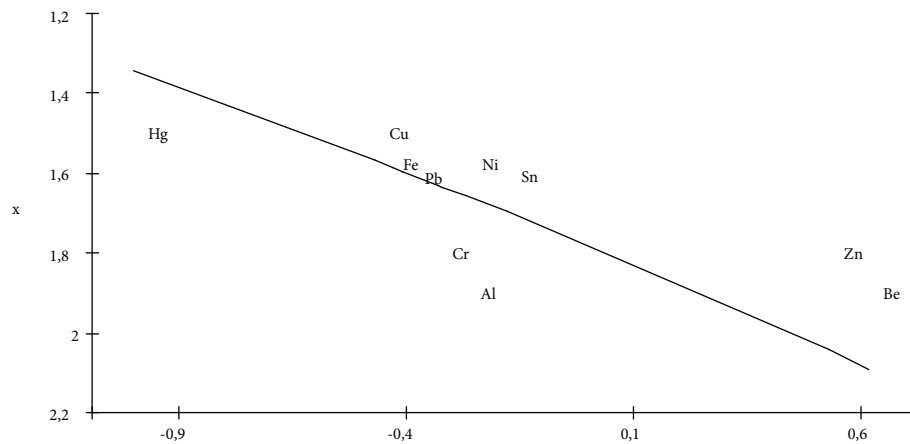


Figur 3.8

Stolpediagram for hvert av ionene i gruppen *lite toksisk*. Hvit stolpe med et standardavvik viser gjennomsnittlig endring i optisk tetthet, sort stolpe viser kontrollenes gjennomsntt.

Sammenhengen mellom elektronegativitet og toksisitet.

Grunnet store avvik ble kadmium, arsen, mangan og magnesium utelatt fra figuren. Konstantene α og γ ble beregnet til hhv 3,46 og 7,06. (Se *appendiks* for detaljer)



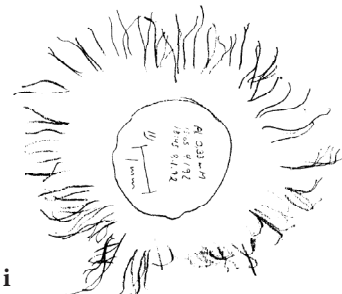
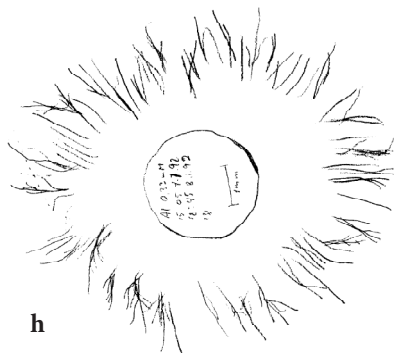
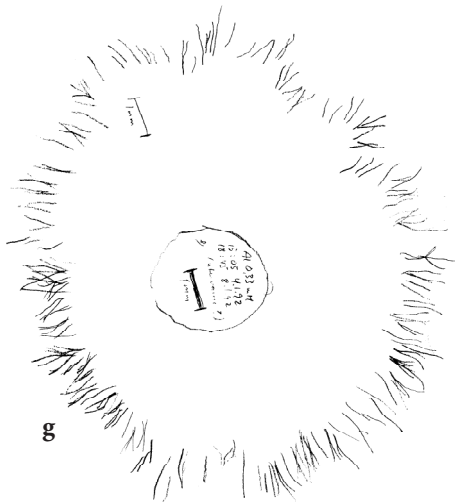
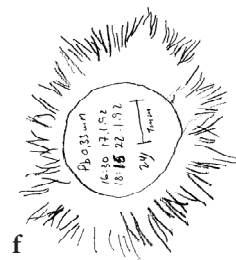
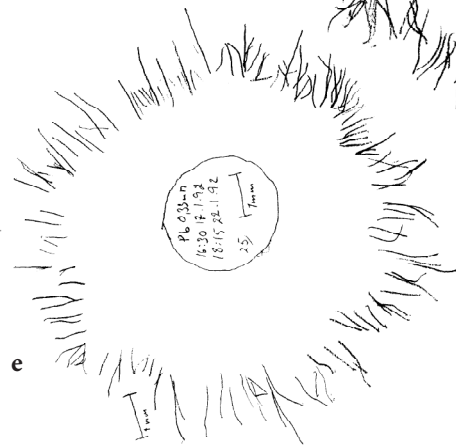
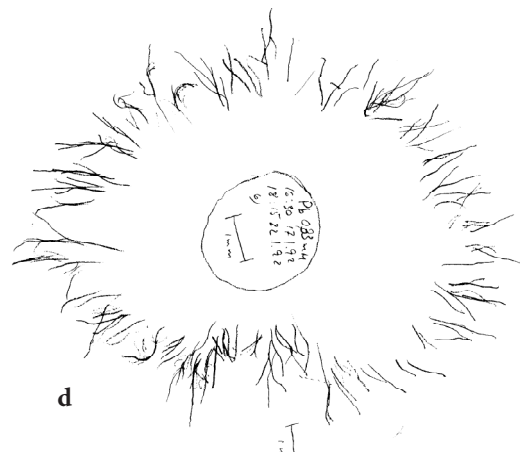
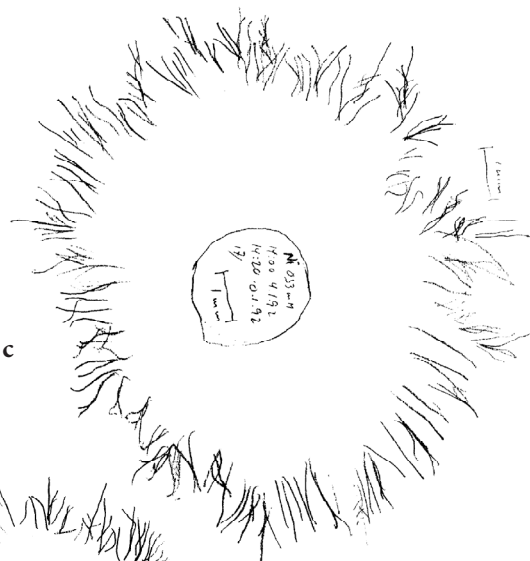
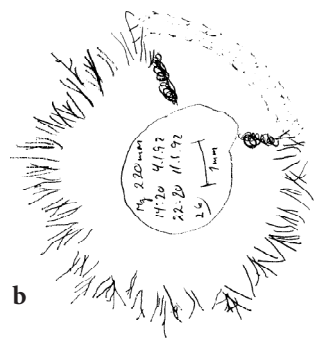
Figur 3.9 Elektronegativitetsverdiene til elementene med regresjonslinje, plottet mot logaritmen til IC_{75} .

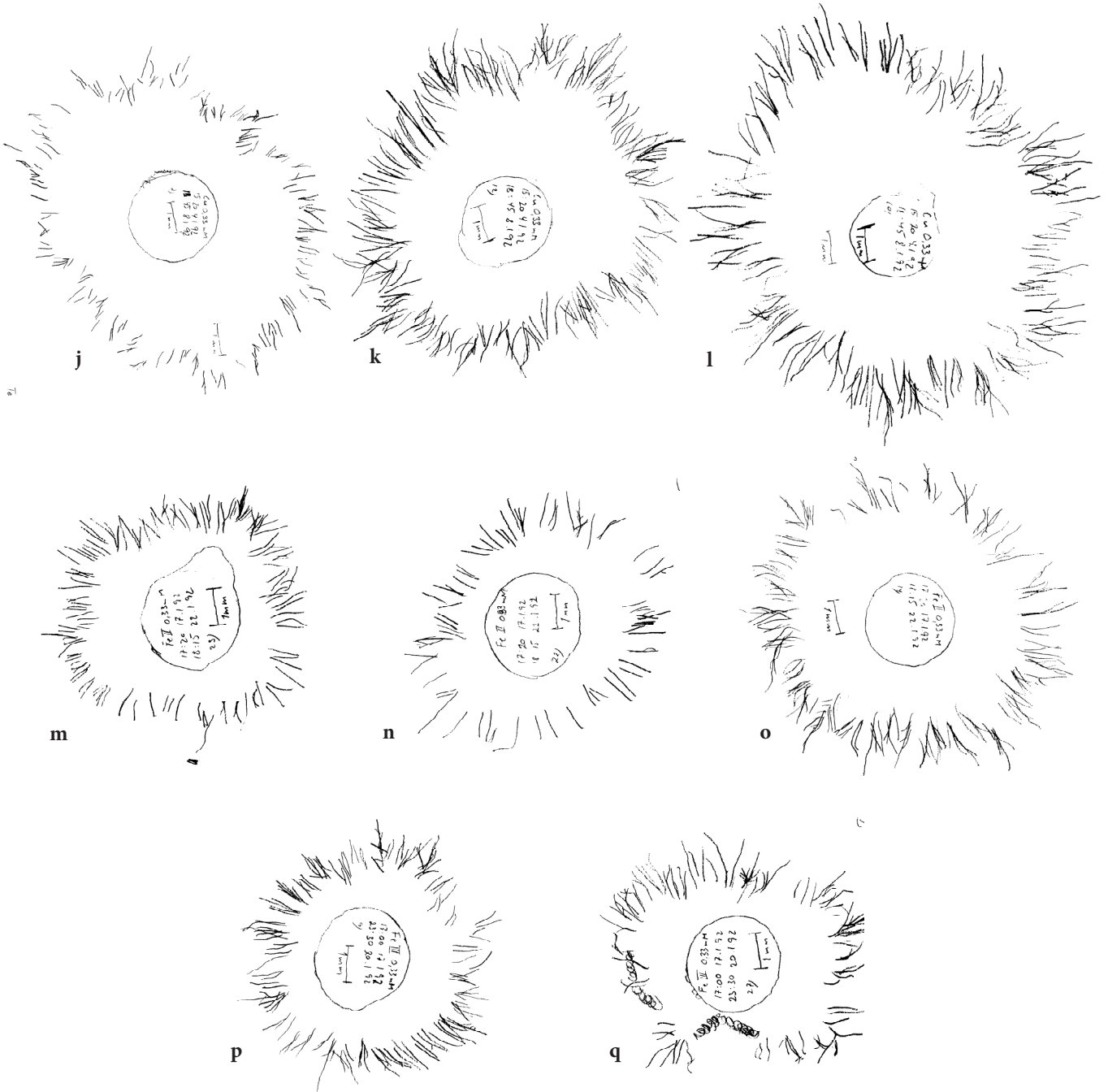
Morfologi og initiell veksthemming

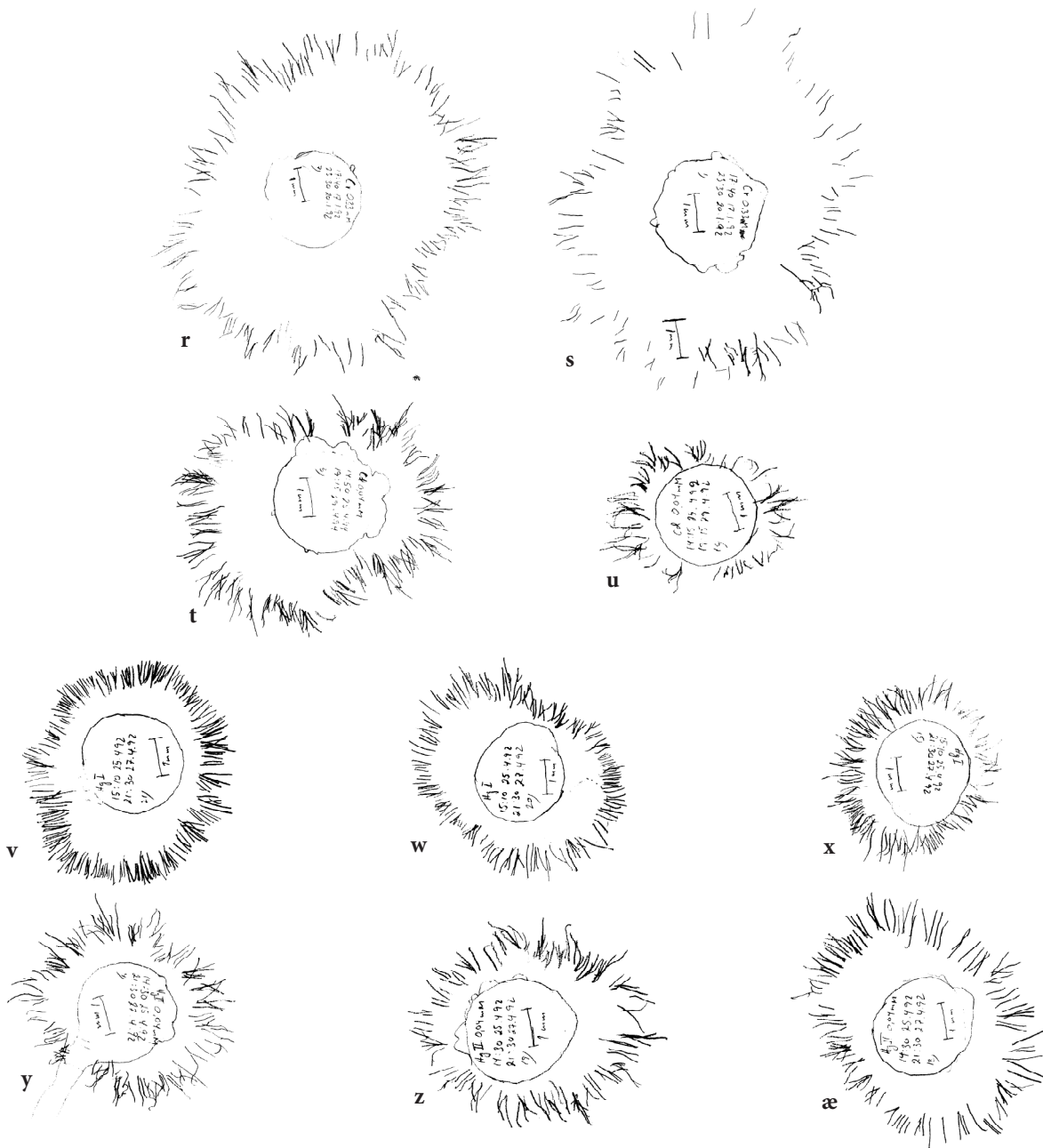
Metoden viste seg i sin nåværende form ikke ferdig utviklet for kvantitative undersøkelser av mycelvekst. Dette skyldes mest problemer med å få likeverdig inokulering av objektglassene. Sylinderene blir stanset ut og kuttet på en måte som gjør de svært like, men problemet ligger trolig i uttørring ved overføringen til objektglasset. Sammenliknet med agarsylindere som benyttes i mikrotiterplatene, vil agarsylindere som benyttes her, fordi de er små, ha et forhold mellom overflate og volum som ligger flere ganger høyere. Derfor vil variasjon i tiden agarsylindere er i kontakt med luft, sannsynligvis medføre store variasjoner i antall levedyktige hyfeender i inokulum. Mycelene som vokste tilfredstillende, er presentert i tabell 3.2 og i figuren under (fig 3.13).

Tabell 3.2 Sammenlikning av gjennomsnittlig initiell veksthastighet multiplisert med ionekonsentrasjon

| Ion | $\bar{v} \cdot [M]$ (mm·mM· døgn ⁻¹) | Standardavvik | Paralleller |
|-------------------------------|---|----------------------|--------------------|
| Mg ²⁺ | 66,99 | 0,294 | 3 |
| Cr ³⁺ | 0,399 | - | 1 |
| Cu ²⁺ | 0,375 | 0,7 | 2 |
| Al ³⁺ | 0,3 | 0,188 | 3 |
| Fe ³⁺ | 0,292 | 0,152 | 3 |
| Ni ²⁺ | 0,249 | 0,036 | 2 |
| Pb ²⁺ | 0,223 | 0,101 | 3 |
| Fe ²⁺ | 0,219 | 0,143 | 3 |
| Hg ²⁺ | 0,039 | 0,091 | 2 |
| Hg ₂ ²⁺ | 0,038 | - | 1 |
| Cd ²⁺ | 0,014 | 0,254 | 3 |







Figur 3.10

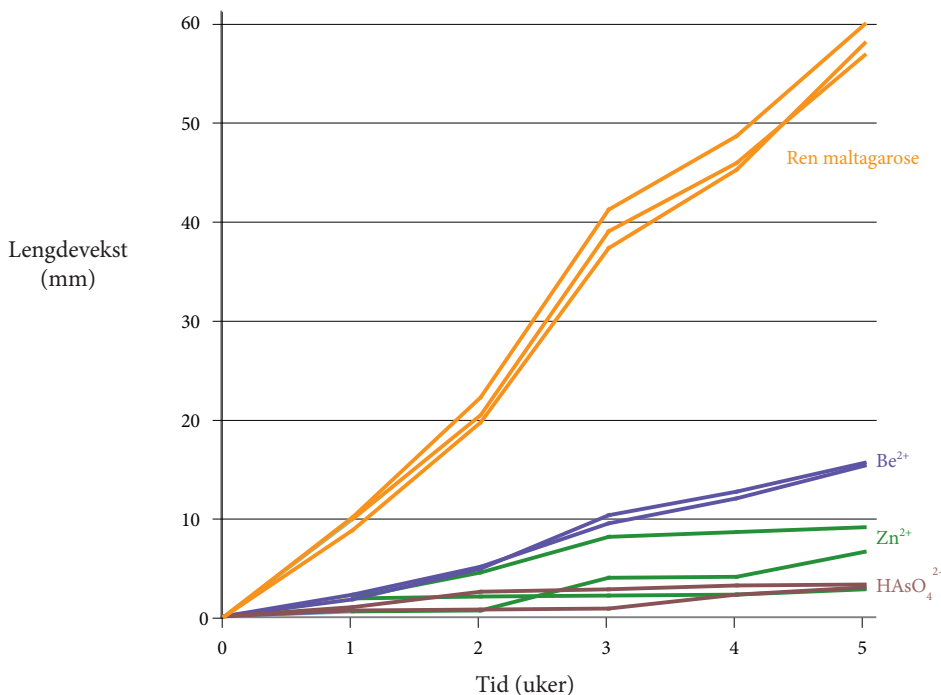
Avtegnede mycel. a-b: Mg^{2+} , c: Ni^{2+} , d-f: Pb^{2+} , g-i: Al^{3+} ,
j-l: Cu^{2+} , m-o: Fe^{2+} , p-q: Fe^{3+} ,
r-s: Cr^{3+} , t-u: Cd^{2+} , v-x: Hg_2^{2+} , y-æ: Hg_2^{2+}

Veksthemming over lang tid

Denne metoden er heller ikke ferdig utarbeidet, men resultatene gir klare indisier på at den med fordel kan utvikles videre. De mest vellykkede rørene viser en tilnærmet lineær vekst gjennom hele vekstperioden. Et positivt trekk er at der hvor veksten avviker litt fra lineariteten (etter tre uker), viser stort sett alle rørene det samme avviket. Dette tyder på en endret ytre faktor i perioden, eksempelvis temperatur, og understreker behovet for et eller flere kontrollrør (fig 3.11). Tallmaterialet (tabell 3.3) er for begrenset til omfattende analyse, men eksempelvis er veksthastigheten ved 4,3 mM Be^{2+} relativ til ren maltagarose her 26,4 %. Den tilsvarende verdien for *andre storskalaforsøk* med 4,3 mM Be^{2+} er 24,0 %.

Tabell 3.3 Avlesninger (mm vekst) fra gruppen *svakt toksiske*.

| | Start | uke 1 | uke 2 | uke 3 | uke 4 | uke 5 |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Zn1 | 0 | 0,5 | 0,6 | 3,9 | 4 | 6,5 |
| Zn2 | 0 | 1,9 | 4,4 | 8 | 8,5 | 9 |
| Zn3 | 0 | 1,8 | 2 | 2,1 | 2,2 | 2,7 |
| Be1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Be2 | 0 | 1,7 | 4,8 | 10,2 | 12,6 | 15,5 |
| Be3 | 0 | 2,2 | 5 | 9,4 | 11,9 | 15,2 |
| As1 | 0 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,6 | 1,1 |
| As2 | 0 | 0,6 | 0,7 | 0,8 | 2,2 | 2,9 |
| As3 | 0 | 0,9 | 2,5 | 2,7 | 3,1 | 3,2 |
| Malt1 | 0 | 9,8 | 20,3 | 38,9 | 45,8 | 56,7 |
| Malt2 | 0 | 10 | 22,1 | 41,1 | 48,5 | 59,8 |
| Malt3 | 0 | 8,7 | 19,6 | 37,2 | 45,1 | 57,9 |



Figur 3.11 Vekstrørvekst for ren maltagarose og maltagarose med 4,3mM Be^{2+} , Zn^{2+} og HAsO_4^{2-} .

DISKUSJON

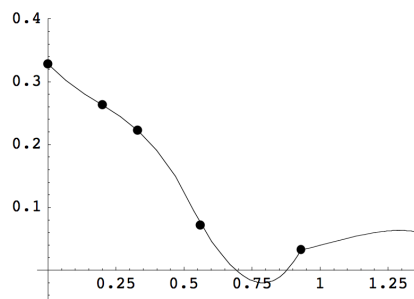
Jeg har, i ulik grad, utviklet tre metoder for studier av vekst og vekstendring hos soppmycel. Det meste av tiden er viet tilpasningen av en mikroplatteteknikk, hvor endring i veksthastighet måles indirekte som ulik endring i lysabsorpsjon i mikrobrønner. Denne fremgangsmåten viser seg å ha en rekke fordeler sammenliknet med de tradisjonelle teknikkene med radialvekst på agar, og flytekultur med tørrvektbestemmelse av mycelmengde. I de to forsøkene i stor skala som er presentert i oppgaven, er det foretatt 2592 initielle enkeltmålinger og tilsvarende 2592 enkeltmålinger etter en vekstperiode på ti dager. En tilsvarende undersøkelse basert på tørrvektbestemmelse ville relativt sett vært svært tidkrevende, tatt i betraktning at tiden det tar å lese av en mikrotiterplate med 96 brønner, er under et halvt minutt. Det totale faktiske væskevolumet som benyttes i de to storskalaforsøkene tilsammen, er på litt over en halv liter. For å produsere et tilsvarende antall observasjoner ved hjelp av tørrvektbestemmelse, kan man eksempelvis ta i bruk 2592 erlenmeyerkolber, hvor det totale væskevolumet lett ville kommet opp i over 500 liter. Radialvekstmålinger i agarskåler ville tilsvarende, ved bruk av 2592 skåler, representere en enorm arbeidsmengde. De små volumene gjør riktignok mikroplatteteknikken sårbar overfor unøyaktigheter i form av målefeil og f. eks variasjon i hyfetetthet i inokulum, men gir samtidig bedre mulighet for å sikre lik behandling av paralleller. Alle mikrotiterplatene får f. eks plass i samme kulturskap, med presumptivt samme abiotiske ytre påvirkninger.

De innledende forsøkene ga indikasjon på at metallioner lar seg dele inn i toksisitetsgrupper. Disse gruppene ble benyttet i første storskalaforsøk, og videreført til andre storskalaforsøk med noen få justeringer (se generelle resultater).

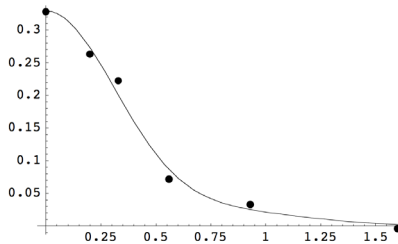
Toksisitetsgruppene er praktiske for forsøksoppsettet, men

grensene mellom gruppene bør betraktes som flytende. For direkte sammenlikning av toksisitet viste IC_{75} -indeksen seg svært velegnet. Det kan argumenteres for at tilordning via lineærfunksjon blir upresist, men den har den opplagte fordel at den er oversiktlig. Alternativt kan det benyttes matematisk analyse og regresjon. Jeg forsøkte to relevante modeller i matematikkprogrammet *Mathematica* (Wolfram inc.) og tar med et par regresjonskurver for Al^{3+} som eksempel.

Minste kvadraters metode:



Her tvinges kurven gjennom koordinatene, men matematikken vil ut i fra dataene ikke nødvendigvis gi bedre kurvetilpasning omkring 75 %, fordi den heller forsøker å glatte ut overgangene. De fleste kurvene fra storskalaforsøkene viser generelt en speilet S-kurve. En kan tvinge regresjonen inn i en slik form vha et sett av *gaussfunksjoner*. Det blir eksempelvis seende slik ut



ved følgende fremgangsmåte:

```
-----REGRESJONSKURVE VELGES MED UTGANGSPUNKT I 4 GAUSSFUNKSJONER-----  
In[73]:= Fit[points, {Exp[-x^2], Exp[-2 x^2], Exp[-3 x^2], Exp[-4 x^2]}, x]  
Out[73]= 0.922014 e^{-4x^2} - 0.96079 e^{-3x^2} + 0.356699 e^{-2x^2} + 0.011069 e^{-x^2}
```

Fordelen er her selvsagt at kurven totalt sett blir mer representativ, men det er ikke opplagt at det gir en bedre IC_{75} -tilnærming. For ordens skyld gir dette en IC_{75} -verdi på 0,572 (mM), mot 0,546 (mM) ved bruk av (6), s. 14. Det kan her virke formålstjenelig med en mer eksperimentell tilnærming til fastsettelse IC_{75} -verdi, f. eks ved å gjenta forsøket med en fortynningsrekke som gir høyere resultatmessig oppløselighet omkring den antatte IC_{75} -verdien. Valget av 75 % veksthemming er til dels vilkårlig valgt. Det innebærer at IC_x med andre verdier for x kan være mer hensiktsmessige.

Resultatmessig sammenlikning med andre arbeider:

Det klart giftigste metallionet av de som er undersøkt her, er Cd^{2+} (IC_{75} -verdi på 0,025 mM). Dette er i god overensstemmelse med hva andre har kommet frem til for andre arter (McCreight & Schroeder, 1974; Paulus & Bresinsky, 1989; Jongbloed & Borst-Pauwels 1990; Willenborg *et al*, 1990; Colpaert & van Assche, 1987; Gadd, 1993). Cd er vist å hemme jordnedbrytere ved mye lavere konsentrasjoner enn f.eks Pb, Ni, Cu og Zn (Coughtrey *et al*, 1979; Tonner & Kunze, 1990). Cd er klart mer toksisk enn det som skulle forventes utfra ionets elektronegativitet (Danielli & Davies, 1951) (fig 3.9). Et eksempel på årsaken til Cd-ionets ekstreme giftvirkning er at det substituerer Zn-ionet (IC_{75} -verdi 4,23 (mM)) i superoksid-dismutase (Cotton & Wilkinson, 1988), noe som eksempelvis forklarer at økt Zn-konsentrasjon kan redusere toksisiteten av Cd ovenfor sopp (Colpaert & van Assche, 1992). Cd-ioner har høy affinitet for sulfhydrylgrupper (Babich & Stotzky, 1980).

Cd-ioner har høy mobilitet i jord (Tonner & Kunze, 1990) og liten tendens til å danne uløselige organiske komplekser med humussyrer. Det er rimelig å anta en tilsvarende situasjon i næringsløsningen. I motsetning til andre tungmetaller som Hg, Zn, Pb, Cu og Ni, vil toksisiteten til Cd gjerne øke med økende pH. Dette skyldes trolig dannelsen av $[Cd(H_2O)_5OH]^+$ som går lettere inn i cellene enn $[Cd(H_2O)_6]^{2+}$ (Bagy *et al*, 1991; Gadd, 1993).

Svært giftig er også de to kvikksølvionene, med IC_{75} på 0,1 mM og 0,14 mM. Sammen med Cu^{2+} (IC_{75} 0,35mM) er kvikksølvioner kjent for å ha betydelig toksisk effekt på sopp (McCreight & Schroeder, 1974, 1982; Ross, 1975; Wassermann *et al*, 1987; Paulus & Bresinsky, 1989; Willenborg *et al*, 1990). Sopp som bryter ned det øvre jordlaget er ofte sensitive for Cu (Rühling & Tyler, 1973; Tyler 1974 (a og b); Nordgren *et al*, 1983), selv om Cu er en viktig bestanddel i phenoloksidase i disse organismene. Sopp, kanskje særlig humusnedbrytere, har ofte en sterk tendens til å akkumulere Hg (Bargagli & Baldi, 1984). Både Cu- og Hg-ionene vil, fordi de er sterkt elektronegative, danne uløselige sulfider (Pauling, 1955). Iones toksisitet vil trolig være relatert til affiniteten til sulfhydryl- og andre thiolatgrupper, fordi dette ofte er bindingssteder på enzymer (Somers, 1961; Rühling & Tyler, 1973; Ross, 1975; Gadd, 1993). Hughes (1957) regnet den høye affiniteten til Hg for sulfhydrylgrupper for å være grunnlaget for Hg sin toksiske virkning. Særlig for kobber, vil dessuten den høye affiniteten for amino- og iminogrupeer på enzymer trolig være viktig for toksisiteten (Ross 1975). Cu og Hg har det til felles at giftigheten deres svekkes av metallothioniner, γ -glutamylpeptider og andre thiolforbindelser (Ashworth & Amin, 1964; Kikuchi, 1964; Cotton & Wilkinson, 1988; Gadd, 1993).

At jernionene har såpass høy giftvirkning (IC_{75} på 0,38 mM og 0,41 mM) er overraskende fordi jern kun sjelden tas med

i undersøkelser av denne typen. Gjennom radialvekstforsøk fant Lokesha & Somashekar (1991) at 3000 mg jernsulfat per liter potet-dekstroseagar er mindre giftig for *Sclerotium Rolfsii*, *Macrophomina phaseolina*, *Pestalotia sp* og *Rhizopus arrhizus*, enn samme konsentrasjon av, ikke bare kadmiumklorid, kobbersulfat og kvikksølvklorid, men også for nikkelsulfat og kromoksid. Det er mulig at *L. multiforme* er spesielt Fe-sensitiv, men muligheten er også tilstede for at Fe-forbindelser er undervurdert som veksthemmere. Fe-ionene har for *L. multiforme* akkurat den giftigheten en kan forvente ut ifra elektronegativitetsverdien (fig 3.9). Bly har det til felles med Hg og Cu at det danner svært tungtløselige sulfider (Pauling, 1955) og har høy affinitet til sulfhydrylgrupper (Gadd, 1993). Pb er antakelig i stand til å skade cellemembraner (Ross, 1975). Zlochevskaya (1968) sannsynliggjør dette gjennom at *Aspergillus niger* frigjør uracil etter blypåvirkning, selv om cellemembranen hos gjærceller ikke svekkes av Pb (Passow & Rothstein, 1960). Pb inngår i meget stabile organiske chelater (Babich & Stotzky, 1980). Videre er det kjent at fosfater fremmer blytoleranse i sopp (Babich & Stotzky, 1980; Marschner & Godbold, 1992), sannsynligvis fordi det dannes lite løselige salter (Bagy et al., 1991). Babich & Stotzky (1980) velger å se på effekten av bly som en svekkelse av fosfortilgjengelighet, fremfor en direkte toksisk effekt. Pb binder seg sterkere til humusstoffer enn de fleste andre elementer (Steinnes et al, 1989). Denne sterke affiniteten til organiske forbindelser kan gi utfelling og skape problemer rent laboratorieteknisk, men forsøket lot seg her gjennomføre med over 6 mM Pb^{2+} i 1,5 % maltløsning, uten å gi observerbart bunnfall. Pb^{2+} har IC_{75} -verdi på 0,38 mM. Nikkel, krom og aluminium kommer ut med forholdsvis like IC_{75} -verdier (hhv 0,481 mM, 0,483 mM og 0,55 mM). For Cr og Al er ikke dette uventet, tatt i betraktning en del felles kjemiske egenskaper. Både Al^{3+} og treverdige Cr reagerer surt grunnet ioner som $[Al(H_2O)_5OH]^{2+}$ og $[Cr(H_2O)_5OH]^{2+}$

(Cotton & Wilkinson, 1988), de har like nok ioneradier for dannelsen av isomorfe forbindelser (Heslop & Robinson, 1963) og sulfidene de danner, lar seg hydrolysere av vann (Pauling, 1955). At Al- og Cr-ionene er giftige skyldes derfor ikke binding til sulfhydrylgrupper (Gadd, 1993), og disse metallionene bindes heller ikke til metallothioneiner eller γ -glutamylpeptider. Toksisiteten kan da heller komme av bindingen til hydrokso-, karboksyl- og methoksyiligander som chelater eller organiske polymerer, eller til polyfosfater i vakuoler (Foy & Brown, 1964; Babich et al, 1982; Donner & Heyser, 1986; Jongbloed & Borst-Pauwels, 1988; Dobbs et al, 1989; Väre, 1990; Gadd, 1993; Høiland, 1994). Jeg ser ingen klar årsak til at Ni^{2+} havner sammen med Cr- og Al-ionene med sin IC_{75} -verdi. Toksikologisk og kjemisk har Ni^{2+} mer til felles med Cu^{2+} og Hg-ionene, med sin høye affinitet til sulfhydryl- og andre thiolatgrupper (Somers, 1961; Rühling & Tyler, 1973; Ross, 1975; Gadd, 1993). Ni^{2+} skiller seg likevel fra Cu- og Hg-ionene ved kun å danne tungtløselige sulfider under nøytrale betingelser (Pauling, 1955). Den noe lavere toksisiteten til Ni-ionet i forhold til Cu- og Hg-ionene kan skyldes deres ulike evne til å indusere metallothioneiner og γ -glutamylpeptider (Morselt et al, 1986; Gadd, 1993). Tinnionet har den høyeste IC_{75} -verdien (0,64 mM) i gruppen *toksiske*. Sn er et spesielt metall som i nøytral tilstand viser sitt slektskap med de lettere elementene i sin hovedgruppe (karbon, silisium og germanium), ved å eksistere i en ikke-metallisk form. Som $2+$ ion er også Sn spesielt ved at det på den ene siden danner uløselige sulfider som ikke hydrolyseres av vann, mens $SnCl_2$ løsninger på den andre siden er sure på grunn av dannelsen av $Sn_4(OH)_6Cl_2$ (Pauling, 1955; Heslop & Robinson, 1963). Både metallothioneiner og bindingen til hydrokso- og beslektede ligander er foreslått som avgiftningsmekanismer for Sn (Høiland, 1995). Når Zn^{2+} , Be^{2+} og arsen ($HAso_4^{2-}$) havner i samme

toksisitetsgruppe synes dette tilfeldig. Disse ionene har svært lite til felles både når det gjelder kjemiske og biologiske egenskaper (Ross, 1975; Gadd, 1993; Byrne & Tušek-Žnidarič, 1983).

Mn²⁺ og Mg²⁺ opptrer i store konsentrasjoner i levende organismer og oppfattes aldri som giftige i normale konsentrasjoner. De høye IC₇₅-verdiene (252 mM og 526 mM) er derfor ikke overraskende.

Metallenes rolle som sporstoffer er ikke undersøkt i oppgaven, men temaet er diskutert av flere forfattere. Eksempelvis er ioner av Cu, Zn, Fe, Mn, Mg, Ca, Sr og K vist essensielle for soppvekst, mens enkelte arter dessuten trenger Co (Bowen, 1966; Byrne *et al*, 1991). Metallene fungerer da oftest i forbindelse med enzymer, enten direkte som metalloenzymer, eller som aktivatorer (Ross, 1975). Ettersom *metodeutvikling* er det sentrale i denne oppgaven, har bruken av malt i næringsløsningene vært et fullgodt alternativ. Jeg anbefaler likevel bruken av mer definerte medier for videre arbeider med metoden. Det finnes en rekke metallioner som kan virke antagonistisk, for eksempel ved å konkurrere om de samme bindingssetene på enzymer (Babich & Stotzky, 1980; Cotton & Wilkinson, 1988). Det er også sannsynlig at ulike ioner kan forsterke hverandres toksiske virkning. Enkelte ioner vil dessuten lett gjennomgå reduksjon/oksidasjon på grunn av forbindelser og ioner i løsningen. Babich *et al* (1982) viser hvordan oksidasjonen av Cr³⁺ til Cr⁶⁺ aksellereres gjennom autoklivering, og anbefaler derfor filtersterilisering av medier. Tilsvarende forhold vil finnes med for eksempel to- og treverdig jern, og en- og toverdig kvikksølv. At begge forsøkene med kvikksølvioner får svært like IC₇₅-verdier, og at det samme gjelder de to jernionene, kan tyde på dette. Med bedre oversikt over innholdet i næringsløsningene, er det ikke utenkelig at interaksjoner på enzymnivå vil kunne oppdages ut i fra veksthemmingskurven til et stoff.

Kommentarer til pH-forsøket:

L. multiforme viser tilsynelatende høyest vekstrate der pH er senket til ca 4,5 ved tilførsel av små mengder svovelsyre. Det er lite trolig at dette er et reelt pH optimum for arten. En mulig forklaring kan ligge i en såkalt *Arndt-Schulz-effekt*, som beskriver at en akkumulering av en ikke-letal konsentrasjon av et giftstoff på overflaten av av cella, medfører en endring i permeabilitet. Økningen i opptak av næringstoffer fører da i sin tur til mer metabolsk aktivitet og muligens høyere veksthastighet (Babich & Stotzky, 1980). En alternativ forklaring kan være at mediet i utgangspunktet har lavere sulfatkonsentrasjon enn det som er optimalt. For de sureste metallionene må senking av pH i høye konsentrasjoner ses på som en del av toksisiteten. En viktig egenskap ved metoden som ikke er utnyttet i denne oppgaven, er at det kan tas en rekke vekstmålinger underveis i vekstperioden, uten at veksten blir betydelig påvirket. Til sammenlikning kan en tørrvektbestemmelse kun finne sted etter endt vekstperiode. De to resterende metodene representerer hvert sitt ytterpunkt for vekstforsøk. Metoden for morfologi og initiell veksthemming er ikke ferdig utarbeidet. Den rene morfologiske delen av teknikken er i bruk med stort hell flere steder (*pers med* Nils Hallenberg). Fikseringsteknikker, fjerning av kolloidiumfilm og ulike typer innfargingsteknikker er godt gjennomprøvd. Utfordringen videre ligger i å sikre lik inokulering av objektglassene, slik at veksthemming i starten av et giftpåvirket vekstforsøk kan undersøkes både gjennom morfologiske endringer på mycelnivå og som endret veksthastighet. Med unntak av Cu²⁺ er likevel resultatene i denne delen av oppgaven i god overensstemmelse med IC₇₅-verdiene fra *andre storskalaforsøk* (mikroplatteteknikken). Metoden for vekstforsøk over lang tid gjør det mulig å drive vekstforsøk med kontinuerlige målinger over flere uker. Med

enkelt avlesningsutstyr blir metoden dessuten mer nøyaktig enn for radialvekstmålinger i agarskåler. Resultatene viser en svært konstant veksthastighet gjennom en vekstperiode på fem uker, både med og uten ionetilsetning. En økende giftighet fra Be^{2+} til Zn^{2+} til HAsO_4^{2-} i forhold til fra HAsO_4^{2-} til Be^{2+} og Zn^{2+} for IC_{75} -verdiene, kan skyldes ulik reaksjon med agarose. Metoden er egnet til å undersøke om mycel kan tilpasse seg en giftpåvirkning over tid. Dersom ønskelig, ser jeg også for meg at vekstrørene kan lages som moduler. Da kan hyfeveksten overføres kontinuerlig fra gamle til nye rør. Dette åpner for muligheten for å studere vekstendring og tilpasning til mikromiljøet i et evolusjonært perspektiv.

KONKLUSJON

Denne hovedoppgaven viser at behovet for nye metoder til mycelkvantifisering langt på vei kan dekkes med plateleserteknikk. Resultatene som fremkommer i oppgaven er i god overensstemmelse med tidligere studier av metallioners giftvirkning på mycel. Plateleserteknikken effektiviserer arbeidet med å registrere mycelvekst slik at antall parallelle forsøk og dermed reproduserbarheten kan økes enormt innenfor gitte resursrammer. Metoden er benyttet i publiserte arbeider (Høiland 1994, 1995; Høiland & Dybdahl, 1993). Med riktig tilrettelegging kan det vise seg at metoden, på grunn av det korte tidsforbruket, egner seg bedre enn de tradisjonelle metodene, også for mange ”problematisk” arter.

Forsøket på å kombinere morfologistudier og studier av initiell veksthemming er så langt bare delvis vellykket. Som teknikk for rene morfologistudier av mycel er metoden godt innarbeidet, og det er her vist at det måleteknisk ikke er noe i veien for å kombinere de to aspektene. Potensialet som ligger i denne kombinasjonen, blir tilgjengeliggjort ved utvikling av en inokuleringsteknikk som sikrer lik inokulering av objektglassene.

Den siste teknikken viser at agarosesylindere sannsynligvis vil kunne utvikles til et godt alternativ til agarskåler for vekststudier over lang tid.

LITTERATURLISTE

- Ashworth, L.J.**, Jr. & Amin, J.V. 1964. A Mechanism for Mercury Tolerance in Fungi. - *Phytopathology* 54: 1459-1463.
- Babich, H.** & Stotzky, G. 1980. Environmental factors that influence the toxicity of heavy metal and gaseous pollutants to microorganisms. - *CRC Crit. Rev. Microbiol.* 8: 99-145.
- Babich, H.**, Schiffenbauer, M. & Stotzky, G. 1982. Effect of sterilization method on toxicity of Cr³⁺ and Cr⁶⁺ to fungi. - *Microbios Letters* 20: 55-64.
- Bagy, M.M.K.**, El-Sharouny, H.M.M. & El-Shanawany, A.A. 1991. Effect of pH and Organic Matter on the Toxicity of Heavy Metals to Growth of Some Fungi. - *Folia Microbiol.* 36: 367-374.
- Bargagli, R.** & Baldi, F. 1984. Mercury and methyl mercury in higher fungi and their relation with the substrata in a cinnabar mining area. - *Chemosphere* 13: 1059-1071.
- Bliss, C. L.** 1935. The calculation of the dose-mortality curve. - *Ann. Appl. Biol.* , 22:134-67.
- Bowen, H. J. M.** 1966. Trace elements in biochemistry. *New York: Academic Press.*
- Byrne, A.R.** & Tušek-Žnidarič, M. 1983. Arsenic accumulation in the mushroom *Laccaria amethystina*. - *Chemosphere* 12: 1113-1117.
- Byrne, A.R.**, Tušek-Žnidarič, M., Puri, B.K. & Irgolic, K.J. 1991. Studies of the uptake and binding of trace metals in fungi. Part II: Arsenic compounds in *Laccaria amethystina*. - *Appl. Organometallic Chem.* 5: 25-32.
- Colpaert, J.V.** & Assche, J.A., van. 1987. Heavy metal tolerance in some ectomycorrhizal fungi. - *Functional Ecology* 1: 415-421.
- Colpaert, J.V.** & Assche, J.A., van. 1992. The effects of cadmium and the cadmium-zinc interaction on the axenic growth of ectomycorrhizal fungi. - *Plant and Soil* 145: 237-243.
- Coughtrey, P.J.**, Jones, C.H., Martin, M.H. & Shales, S.W. 1979. Litter Accumulation in Woodlands Contaminated by Pb, Zn, Cd and Cu. - *Oecologia* 39: 51-60.
- Cotton, F.A.** & Wilkinson, G. 1988. *Advanced Inorganic Chemistry. Fifth Edition.* - John Wiley and Sons, New York.
- Danielli, J.F.** & Davies, J.T. 1951. Reactions at Interfaces in Relation to Biological Problems. - *Advances in Enzymology* 11: 35-89.
- Dobbs, A.J.**, French, P., Gunn, A.M., Hunt, D.T.E., & Winnard, D.A. 1989. Aluminum speciation and toxicity in upland waters. - In: Lewis, T.E. (ed.), *Environmental Chemistry and Toxicology of Aluminum.* Lewis Publishers, inc., Chelsea, Michigan, pp. 209-228.
- Donner, B.** & Heyser, W. 1986. Distribution of elements in mycorrhizal and non-mycorrhizal fine roots of air pollution stressed spruce. - In: Gianinazzi-Pearson, V. & Gianinazzi, S. (eds), *Physiological and genetical aspects of mycorrhizae.* 1er Symp. Eur. Mycorrh., Dijon 1985, Paris, pp. 445-449.
- Foy, C.D.** & Brown, J.C. 1964. Toxic Factors in Acid Soils: II. Differential Aluminum Tolerance of Plant Species. - *J. Soil Sci. Soc. Amer.* 28: 27-32.
- Gadd, G.M.** 1993. Interactions of fungi with toxic metals. - *New Phytol.* 124: 25-60.
- Heslop, R.B.** & Robinson, P.L. 1963. *Inorganic Chemistry. A Guide to Advanced Study.* Second, revised edition. - Elsevier Publishing Company, Amsterdam.
- Hoiland, K.** 1994. Suppression of the toxic effect of soluble aluminium on fungi by dermocycin-1-β-D-glucopyranoside and orellanine from *Cortinarius sanguineus* and *C. orellanoides*. - *Nord. J. Bot.* 14: (In press.)
- Hoiland, K.** 1995. Reaction of some decomposer basidiomycetes to toxic elements. - *Nord. J. Bot.* 13: 305-318.
- Hoiland, K.** & Dybdahl, H.G. 1993. A micro-well method for estimating fungal response to metal ions. Response to aluminium by some saprophytic basidiomycetes. - *Nord. J.*

Bot. 13: 691-696.

Hughes, W.L. 1957. A physiological rationale for the biological activity of mercury and its compounds. - Ann. New York Acad. Sci. 65: 454-460.

Jongbloed, R.H. & Borst-Pauwels, G.W.F.H. 1988. Effects of Al^{3+} and NH_4^+ on growth and uptake of K^+ and $H_2PO_4^-$ by three ectomycorrhizae fungi in pure culture. - In: Jansen, A.E., Dighton, J. & Bresser, A.H.M. (eds), Ectomycorrhizae and acid rain. Comm. Eur. Commun., Air Pollut. Res. Rep. 12, Bilthoven, pp. 47-52.

Jongbloed, R.H. & Borst-Pauwels, G.W.F.H. 1990. Differential response of some ectomycorrhizal fungi to cadmium in vitro. - Acta Bot. Neerl. 39: 241-246.

Kikuchi, T. 1964. Comparison of original and secondarily developed copper resistance of yeast strains. - Bot. Mag., Tokyo 77: 395-402.

Lichfield J.T. & Wilcoxon F. J. 1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J Exp Therap. 96: 99-100.

Lokesha, S. & Somashekar, R.K. 1991. Effect of Heavy Metals on the Growth of Some Fungi. A preliminary Assay. - Indian J. Environ. Health 33: 123-125.

McCreight, J.D. & Schroeder, D.B. 1974. The effect of cadmium, nickel, and lead on the growth of ectomycorrhizal fungi. - Phytopathology 64: 583.

McCreight, J.D. & Schroeder, D.B. 1982. Inhibition of growth of nine ectomycorrhizal fungi by cadmium, lead, and nickel in vitro. - Environ. and Exp. Bot. 22: 1-7.

Morselt, A.F.W., Smits, W.T.M. & Limonard, T. 1986. Histochemical demonstration of heavy metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. - Plant and Soil 96: 417-420.

Niedor, E. & Richardson, D. H. S., 1980. The replacement of the nondescript term "heavy metal" by a biologically and chemically significant classification of metal ions, Environ. Pollut. (Ser. B), 1, 3, **Nordgren, A.,** Bååth, E. & Söderström,

B. 1983. Microfungi and Microbial Activity Along a Heavy Metal Gradient. - Appl. and Environ. Microbiol. 45: 1829-1837.

Passow, H & Rothstein, A. 1960. The binding of mercury by the yeast cell in relation to changes in permeability. Journal of General Physiology 43, 621-633.

Pauling, L. 1955. College Chemistry. Second Edition. - W.H. Freeman and Company, San Francisco.

Paulus, W. & Bresinsky, A. 1989. Soil Fungi and Other Microorganisms - Ecological Studies 77: 110-120.

Ross, I. S. 1975. Some effects of heavy metals on fungal cells. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 64(2)175-193.

Rühling, Å. & Tyler, G. 1973. Heavy metal pollution and decomposition of spruce needle litter. - Oikos 24: 402-416.

Snowden, R. E. D & Wheeler, B. D. 1993. Iron toxicity to fen plant species. - Journal of Ecology 81: 35-46

Sokal, R.R. & Michener, C.D. 1958. A statistic method for evaluating systematic relationships. - Univ. Kansas Sci. Bull. 38: 1409-1438.

Somashekar, M.D., Kulashekar, M.D. & Satishchandra Prabhu, M. 1983. Toxicity of heavy metals to some fungi. - Int. J. Environ. Stud. 21: 277-280.

Somers, E. 1961. The fungitoxicity of metal ions. - Ann. Appl. Biol. 49: 246-253.

Steinnes, E., Solberg, W., Petersen, H.M. & Wren, C.D. 1989. Heavy metal pollution by long range atmospheric transport in natural soils of Southern Norway. - Water Air & Soil Pollut. 45: 207-218.

Sternheim, M. M. & Kane, J. W. 1986. General Physics. John Wiley and Sons. New York. 765 pp.

Tonner, G. & Kunze, C. 1990. Der Einfluss von Schwermetallen auf die N-Mineralisation mit Berücksichtigung des Pilz-Bakterien-Verhältnisses. - Angew. Botanik 64: 345-355.

Trevan, J., 1927. The error of determination of toxicity. -Proc

R Soc 101B:483–514.

Trinci A. P. J. 1971. Influence of the Width of the Peripheral Growth Zone on the Radial Growth Rate of Fungal Colonies on Solid Media. -J. of General Microbiology 67: 325-344

Tyler, G. 1974a. Effekter av tungmetallförorening på nedbrytningsprocesser i skogsmark. - Statens naturvårdsverk ssv pm 443: 1-23.

Tyler, G. 1974b. Effekter av tungmetallförorening på nedbrytningsprocesser i skogsmark. II. Nedbrytningshastighet, kväve- och fosformineralisering, markenzymatisk aktivitet. - Statens naturvårdsverk ssv pm 542: 1-53.

Väre, H. 1990. Aluminium polyphosphate in the ectomycorrhizal fungus *Suillus variegatus* (Fr.) O. Kunze as revealed by energy dispersive spectrometry. - New Phytol. 116: 663-668.

Wasserman, J.L., Mineo, L., Majumdar, S.K. & Tyne, C., van. 1987. Detection of heavy metals in oak mycorrhizae of northeastern Pennsylvania forests, using x-ray microanalysis. - Can. J. Bot. 65: 2622-2627.

Willenborg, A., Schmitz, D. & Lelley, J. 1990. Effects of environmental stress factors on ectomycorrhizal fungi in vitro. - Can. J. Bot. 68: 1741-1746.

Zlochevskaya, I. V. 1968. Toxic effects of a lead complex with DL-cysteine on *Aspergillus niger*. Microbiology 37, 209-714.

APPENDIKS

Første storskalaforsøk

| Ion | Id | a_f | a_e | $a_e - a_f$ | [M]/mrk |
|------------------|----|-------|-------|-------------|---------|
| Al ³⁺ | A1 | 0,493 | 0,769 | 0,276 | 0,0 mM |
| | B1 | 0,476 | 0,732 | 0,256 | |
| | C1 | 0,459 | 0,762 | 0,303 | |
| Cd ²⁺ | D1 | 0,351 | 0,364 | 0,013 | 0,0 mM |
| | E1 | 0,382 | 0,385 | 0,003 | |
| | F1 | 0,404 | 0,656 | 0,252 | |
| Al ³⁺ | G1 | 0,496 | 0,836 | 0,34 | 0,0 mM |
| | H1 | 0,419 | 0,788 | 0,369 | |
| | A2 | 0,47 | 0,789 | 0,319 | |
| Cd ²⁺ | B2 | 0,383 | 0,74 | 0,357 | 0,10 mM |
| | C2 | 0,363 | 0,708 | 0,345 | |
| | D2 | 0,389 | 0,367 | -0,02 | |
| Al ³⁺ | E2 | 0,426 | 0,408 | -0,02 | 0,10 mM |
| | F2 | 0,481 | 0,664 | 0,183 | |
| | G2 | 0,442 | 0,879 | 0,437 | |
| Cd ²⁺ | H2 | 0,388 | 0,705 | 0,317 | 0,10 mM |
| | A3 | 0,367 | 0,726 | 0,359 | |
| | B3 | 0,395 | 0,712 | 0,317 | |
| Al ³⁺ | C3 | 0,386 | 0,728 | 0,342 | 0,17 mM |
| | D3 | 0,37 | 0,375 | 0,005 | |
| | E3 | 0,418 | 0,405 | -0,01 | |
| Cd ²⁺ | F3 | 0,396 | 0,396 | 0 | 0,17 mM |
| | G3 | 0,425 | 0,508 | 0,083 | |
| | H3 | 0,316 | 0,358 | 0,042 | |
| Al ³⁺ | A4 | 0,436 | 0,729 | 0,293 | 0,17 mM |
| | B4 | 0,455 | 0,74 | 0,285 | |
| | C4 | 0,373 | 0,704 | 0,331 | |
| Cd ²⁺ | D4 | 0,387 | 0,365 | -0,02 | 0,3 mM |
| | E4 | 0,449 | 0,432 | -0,02 | |
| | F4 | 0,392 | 0,394 | 0,002 | |
| Al ³⁺ | G4 | 0,397 | 0,42 | 0,023 | 0,3 mM |
| | H4 | 0,341 | 0,422 | 0,081 | |
| | A5 | 0,472 | 0,706 | 0,234 | |
| Cd ²⁺ | B5 | 0,437 | 0,732 | 0,295 | 0,3 mM |
| | C5 | 0,378 | 0,677 | 0,299 | |
| | D5 | 0,396 | 0,389 | -0,01 | |
| Al ³⁺ | E5 | 0,416 | 0,407 | -0,01 | 0,5 mM |
| | F5 | 0,432 | 0,437 | 0,005 | |
| | G5 | 0,415 | 0,417 | 0,002 | |
| Cd ²⁺ | H5 | 0,365 | 0,412 | 0,047 | 0,5 mM |
| | A6 | 0,527 | 0,718 | 0,191 | |
| | B6 | 0,44 | 0,604 | 0,164 | |
| Al ³⁺ | C6 | 0,398 | 0,436 | 0,038 | 0,5 mM |
| | D6 | 0,375 | 0,368 | -0,01 | |

| | | | | | |
|------------------|-----|-------|-------|-------|---------|
| Cd ²⁺ | E6 | 0,414 | 0,388 | -0,03 | 0,8 mM |
| | F6 | 0,395 | 0,396 | 0,001 | |
| | G6 | 0,381 | 0,397 | 0,016 | |
| Al ³⁺ | H6 | 0,432 | 0,433 | 0,001 | 0,8 mM |
| | A7 | 0,474 | 0,611 | 0,137 | |
| | B7 | 0,429 | 0,426 | 0 | |
| Cd ²⁺ | C7 | 0,411 | 0,409 | 0 | 0,8 mM |
| | D7 | 0,387 | 0,375 | -0,01 | |
| | E7 | 0,421 | 0,407 | -0,01 | |
| Al ³⁺ | F7 | 0,447 | 0,44 | -0,01 | 1,3 mM |
| | G7 | 0,408 | 0,426 | 0,018 | |
| | H7 | 0,391 | 0,415 | 0,024 | |
| Cd ²⁺ | A8 | 0,471 | 0,481 | 0,01 | 1,3 mM |
| | B8 | 0,525 | 0,592 | 0,067 | |
| | C8 | 0,414 | 0,42 | 0,006 | |
| Al ³⁺ | D8 | 0,396 | 0,389 | -0,01 | 1,3 mM |
| | E8 | 0,434 | 0,409 | -0,03 | |
| | F8 | 0,46 | 0,455 | -0,01 | |
| Cd ²⁺ | G8 | 0,492 | 0,49 | 0 | 2,2 mM |
| | H8 | 0,373 | 0,409 | 0,036 | |
| | A9 | 0,476 | 0,483 | 0,007 | |
| Al ³⁺ | B9 | 0,433 | 0,446 | 0,013 | 2,2 mM |
| | C9 | 0,415 | 0,419 | 0,004 | |
| | D9 | 0,385 | 0,385 | 0 | |
| Cd ²⁺ | E9 | 0,443 | 0,418 | -0,03 | 2,2 mM |
| | F9 | 0,443 | 0,451 | 0,008 | |
| | G9 | 0,417 | 0,435 | 0,018 | |
| Al ³⁺ | H9 | 0,404 | 0,422 | 0,018 | 3,6 mM |
| | A10 | 0,453 | 0,459 | 0,006 | |
| | B10 | 0,405 | 0,406 | 0,001 | |
| Cd ²⁺ | C10 | 0,395 | 0,405 | 0,01 | 3,6 mM |
| | D10 | 0,4 | 0,382 | -0,02 | |
| | E10 | 0,445 | 0,413 | -0,03 | |
| Al ³⁺ | F10 | 0,445 | 0,448 | 0,003 | 3,6 mM |
| | G10 | 0,429 | 0,44 | 0,011 | |
| | H10 | 0,386 | 0,436 | 0,05 | |
| Cd ²⁺ | A11 | 0,484 | 0,496 | 0,012 | 6,0 mM |
| | B11 | 0,411 | 0,418 | 0,007 | |
| | C11 | 0,382 | 0,403 | 0,021 | |
| Al ³⁺ | D11 | 0,387 | 0,382 | -0,01 | 6,0 mM |
| | E11 | 0,424 | 0,418 | -0,01 | |
| | F11 | 0,471 | 0,463 | -0,01 | |
| Cd ²⁺ | G11 | 0,456 | 0,437 | -0,02 | 6,0 mM |
| | H11 | 0,417 | 0,419 | 0,002 | |
| | A12 | 0,431 | 0,479 | 0,048 | |
| Al ³⁺ | B12 | 0,419 | 0,439 | 0,02 | 10,0 mM |
| | C12 | 0,415 | 0,437 | 0,022 | |
| | D12 | 0,373 | 0,37 | 0 | |
| Cd ²⁺ | E12 | 0,393 | 0,395 | 0,002 | 10,0 mM |
| | F12 | 0,473 | 0,48 | 0,007 | |
| | G12 | 0,454 | 0,473 | 0,019 | |
| Al ³⁺ | H12 | 0,399 | 0,422 | 0,023 | 10,0 mM |

| | | | | | | | | | | | |
|------------------|----|-------|-------|--------|------------------|------------------|-------|-------|--------|--------|---------|
| HAsO42- | A1 | 0,424 | 0,808 | 0,384 | 0,0 mM | Zn ²⁺ | E7 | 0,405 | 0,395 | -0,01 | 1,3 mM |
| | B1 | 0,449 | 0,796 | 0,347 | | | F7 | 0,469 | 0,785 | 0,316 | |
| | C1 | 0,45 | 0,866 | 0,416 | | | G7 | 0,439 | 0,746 | 0,307 | |
| | D1 | 0,371 | 0,391 | 0,02 | | | H7 | 0,4 | 0,691 | 0,291 | |
| Zn ²⁺ | E1 | 0,368 | 0,356 | -0,012 | HAsO42- | A8 | 0,433 | 0,808 | 0,375 | | |
| | F1 | 0,432 | 0,796 | 0,364 | | B8 | 0,415 | 0,73 | 0,315 | | |
| | G1 | 0,48 | 0,864 | 0,384 | | C8 | 0,424 | 0,754 | 0,33 | | |
| | H1 | 0,371 | 0,795 | 0,424 | | D8 | 0,372 | 0,36 | -0,012 | | |
| HAsO42- | A2 | 0,452 | 0,848 | 0,396 | Zn ²⁺ | E8 | 0,411 | 0,395 | -0,016 | 2,2 mM | |
| | B2 | 0,403 | 0,794 | 0,391 | | F8 | 0,463 | 0,798 | 0,335 | | |
| | C2 | 0,39 | 0,771 | 0,381 | | G8 | 0,45 | 0,721 | 0,271 | | |
| | D2 | 0,369 | 0,372 | 0,003 | | H8 | 0,43 | 0,72 | 0,29 | | |
| Zn ²⁺ | E2 | 0,376 | 0,368 | -0,008 | HAsO42- | A9 | 0,47 | 0,792 | 0,322 | | |
| | F2 | 0,425 | 0,813 | 0,388 | | B9 | 0,423 | 0,729 | 0,306 | | |
| | G2 | 0,486 | 0,886 | 0,4 | | C9 | 0,411 | 0,696 | 0,285 | | |
| | H2 | 0,376 | 0,808 | 0,432 | | D9 | 0,388 | 0,373 | -0,015 | | |
| HAsO42- | A3 | 0,394 | 0,829 | 0,435 | Zn ²⁺ | E9 | 0,429 | 0,375 | -0,054 | | 3,6 mM |
| | B3 | 0,469 | 0,808 | 0,339 | | F9 | 0,502 | 0,785 | 0,283 | | |
| | C3 | 0,372 | 0,761 | 0,389 | | G9 | 0,443 | 0,767 | 0,324 | | |
| | D3 | 0,372 | 0,372 | 0 | | H9 | 0,414 | 0,696 | 0,282 | | |
| Zn ²⁺ | E3 | 0,352 | 0,354 | 0,002 | HAsO42- | A10 | 0,457 | 0,777 | 0,32 | | |
| | F3 | 0,465 | 0,826 | 0,361 | | B10 | 0,467 | 0,73 | 0,263 | | |
| | G3 | 0,428 | 0,874 | 0,446 | | C10 | 0,439 | 0,703 | 0,264 | | |
| | H3 | 0,387 | 0,769 | 0,382 | | D10 | 0,389 | 0,384 | -0,005 | | |
| HAsO42- | A4 | 0,413 | 0,819 | 0,406 | Zn ²⁺ | E10 | 0,385 | 0,379 | -0,006 | 6,0 mM | |
| | B4 | 0,389 | 0,786 | 0,397 | | F10 | 0,491 | 0,805 | 0,314 | | |
| | C4 | 0,359 | 0,764 | 0,405 | | G10 | 0,455 | 0,752 | 0,297 | | |
| | D4 | 0,361 | 0,358 | -0,003 | | H10 | 0,402 | 0,592 | 0,19 | | |
| Zn ²⁺ | E4 | 0,391 | 0,375 | -0,016 | HAsO42- | A11 | 0,447 | 0,724 | 0,277 | | |
| | F4 | 0,486 | 0,822 | 0,336 | | B11 | 0,411 | 0,637 | 0,226 | | |
| | G4 | 0,389 | 0,792 | 0,403 | | C11 | 0,434 | 0,661 | 0,227 | | |
| | H4 | 0,46 | 0,8 | 0,34 | | D11 | 0,408 | 0,406 | -0,002 | | |
| HAsO42- | A5 | 0,503 | 0,824 | 0,321 | Zn ²⁺ | E11 | 0,4 | 0,408 | 0,008 | | 10,0 mM |
| | B5 | 0,434 | 0,773 | 0,339 | | F11 | 0,476 | 0,725 | 0,249 | | |
| | C5 | 0,387 | 0,758 | 0,371 | | G11 | 0,449 | 0,503 | 0,054 | | |
| | D5 | 0,361 | 0,356 | -0,005 | | H11 | 0,365 | 0,446 | 0,081 | | |
| Zn ²⁺ | E5 | 0,394 | 0,385 | -0,009 | HAsO42- | A12 | 0,535 | 0,665 | 0,13 | | |
| | F5 | 0,441 | 0,806 | 0,365 | | B12 | 0,483 | 0,593 | 0,11 | | |
| | G5 | 0,439 | 0,801 | 0,362 | | C12 | 0,486 | 0,644 | 0,158 | | |
| | H5 | 0,431 | 0,743 | 0,312 | | D12 | 0,446 | 0,449 | 0,003 | | |
| HAsO42- | A6 | 0,461 | 0,832 | 0,371 | Zn ²⁺ | E12 | 0,372 | 0,4 | 0,028 | 0,0 mM | |
| | B6 | 0,431 | 0,779 | 0,348 | | F12 | 0,492 | 0,558 | 0,066 | | |
| | C6 | 0,396 | 0,729 | 0,333 | | G12 | 0,429 | 0,513 | 0,084 | | |
| | D6 | 0,348 | 0,344 | -0,004 | | H12 | 0,352 | 0,461 | 0,109 | | |
| Zn ²⁺ | E6 | 0,386 | 0,38 | -0,006 | Be ²⁺ | A1 | 0,318 | 0,614 | 0,296 | | |
| | F6 | 0,463 | 0,786 | 0,323 | | B1 | 0,315 | 0,629 | 0,314 | | |
| | G6 | 0,415 | 0,716 | 0,301 | | C1 | 0,304 | 0,623 | 0,319 | | |
| | H6 | 0,412 | 0,753 | 0,341 | | D1 | 0,399 | 0,434 | 0,035 | | |
| HAsO42- | A7 | 0,428 | 0,821 | 0,393 | Ni ²⁺ | E1 | 0,421 | 0,474 | 0,053 | | |
| | B7 | 0,442 | 0,763 | 0,321 | | F1 | 0,34 | 0,69 | 0,35 | | |
| | C7 | 0,424 | 0,72 | 0,296 | | G1 | 0,376 | 0,733 | 0,357 | | |
| | D7 | 0,404 | 0,415 | 0,011 | | H1 | 0,406 | 0,79 | 0,384 | | |

| | | | | | | | | | | | |
|------------------|----|-------|-------|--------|---------|------------------|-----|-------|-------|--------|---------|
| Pb ²⁺ | A3 | 0,381 | 0,694 | 0,313 | 0,10 mM | Cu ²⁺ | E9 | 0,417 | 0,408 | -0,009 | |
| | B3 | 0,383 | 0,623 | 0,24 | | | F9 | 0,48 | 0,622 | 0,142 | |
| | C3 | 0,391 | 0,649 | 0,258 | | | G9 | 0,421 | 0,428 | 0,007 | |
| Cu ²⁺ | D3 | 0,386 | 0,378 | -0,008 | | Pb ²⁺ | H9 | 0,471 | 0,488 | 0,017 | 3,6 mM |
| | E3 | 0,44 | 0,416 | -0,024 | | | A10 | 0,711 | 0,795 | 0,084 | |
| | F3 | 0,463 | 0,814 | 0,351 | | | B10 | 0,675 | 0,764 | 0,089 | |
| Pb ²⁺ | G3 | 0,421 | 0,716 | 0,295 | 0,17 mM | Cu ²⁺ | C10 | 0,754 | 0,793 | 0,039 | |
| | H3 | 0,422 | 0,74 | 0,318 | | | D10 | 0,674 | 0,743 | 0,069 | |
| | A4 | 0,492 | 0,723 | 0,231 | | | E10 | 0,427 | 0,444 | 0,017 | |
| Cu ²⁺ | B4 | 0,428 | 0,641 | 0,213 | | Pb ²⁺ | F10 | 0,459 | 0,462 | 0,003 | 6,0 mM |
| | C4 | 0,416 | 0,644 | 0,228 | | | G10 | 0,438 | 0,458 | 0,02 | |
| | D4 | 0,406 | 0,397 | -0,009 | | | H10 | 0,457 | 0,501 | 0,044 | |
| Pb ²⁺ | E4 | 0,469 | 0,452 | -0,017 | 0,3 mM | Cu ²⁺ | A11 | 0,751 | 0,856 | 0,105 | |
| | F4 | 0,46 | 0,836 | 0,376 | | | B11 | 0,679 | 0,773 | 0,094 | |
| | G4 | 0,426 | 0,677 | 0,251 | | | C11 | 0,737 | 0,863 | 0,126 | |
| Cu ²⁺ | H4 | 0,487 | 0,783 | 0,296 | | Pb ²⁺ | D11 | 0,697 | 0,78 | 0,083 | 10,0 mM |
| | A5 | 0,448 | 0,623 | 0,175 | | | E11 | 0,457 | 0,463 | 0,006 | |
| | B5 | 0,378 | 0,429 | 0,051 | | | F11 | 0,482 | 0,476 | -0,006 | |
| Pb ²⁺ | C5 | 0,429 | 0,537 | 0,108 | 0,5 mM | Cu ²⁺ | G11 | 0,44 | 0,447 | 0,007 | |
| | D5 | 0,419 | 0,404 | -0,015 | | | H11 | 0,462 | 0,497 | 0,035 | |
| | E5 | 0,482 | 0,457 | -0,025 | | | A12 | 0,398 | 0,489 | 0,091 | |
| Cu ²⁺ | F5 | 0,481 | 0,845 | 0,364 | | Pb ²⁺ | B12 | 0,419 | 0,494 | 0,075 | 10,0 mM |
| | G5 | 0,413 | 0,714 | 0,301 | | | C12 | 0,463 | 0,562 | 0,099 | |
| | H5 | 0,429 | 0,779 | 0,35 | | | D12 | 0,384 | 0,436 | 0,052 | |
| Pb ²⁺ | A6 | 0,55 | 0,656 | 0,106 | 0,8 mM | Cu ²⁺ | E12 | 0,406 | 0,431 | 0,025 | |
| | B6 | 0,407 | 0,539 | 0,132 | | | F12 | 0,441 | 0,476 | 0,035 | |
| | C6 | 0,439 | 0,559 | 0,12 | | | G12 | 0,427 | 0,477 | 0,05 | |
| Cu ²⁺ | D6 | 0,484 | 0,449 | -0,035 | | Fe ²⁺ | H12 | 0,475 | 0,517 | 0,042 | 0,0 mM |
| | E6 | 0,447 | 0,429 | -0,018 | | | A1 | 0,372 | 0,823 | 0,451 | |
| | F6 | 0,495 | 0,832 | 0,337 | | | B1 | 0,41 | 0,807 | 0,397 | |
| Pb ²⁺ | G6 | 0,547 | 0,706 | 0,159 | 0,8 mM | Cu ²⁺ | C1 | 0,312 | 0,757 | 0,445 | |
| | H6 | 0,516 | 0,822 | 0,306 | | | D1 | 0,344 | 0,338 | -0,006 | |
| | A7 | 0,545 | 0,722 | 0,177 | | | E1 | 0,326 | 0,349 | 0,023 | |
| Cu ²⁺ | B7 | 0,468 | 0,614 | 0,146 | | Fe ³⁺ | F1 | 0,355 | 0,846 | 0,491 | 0,10 mM |
| | C7 | 0,506 | 0,594 | 0,088 | | | G1 | 0,375 | 0,846 | 0,471 | |
| | D7 | 0,599 | 0,696 | 0,097 | | | H1 | 0,368 | 0,815 | 0,447 | |
| Pb ²⁺ | E7 | 0,443 | 0,446 | 0,003 | 1,3 mM | Cu ²⁺ | A2 | 0,374 | 0,825 | 0,451 | |
| | F7 | 0,588 | 0,637 | 0,049 | | | B2 | 0,398 | 0,795 | 0,397 | |
| | G7 | 0,432 | 0,462 | 0,03 | | | C2 | 0,332 | 0,745 | 0,413 | |
| Cu ²⁺ | H7 | 0,452 | 0,575 | 0,123 | | Fe ³⁺ | D2 | 0,369 | 0,385 | 0,016 | |
| | A8 | 0,691 | 0,736 | 0,045 | | | E2 | 0,363 | 0,364 | 0,001 | |
| | B8 | 0,664 | 0,684 | 0,02 | | | F2 | 0,433 | 0,863 | 0,43 | |
| Pb ²⁺ | C8 | 0,698 | 0,788 | 0,09 | 2,2 mM | Cu ²⁺ | G2 | 0,4 | 0,794 | 0,394 | |
| | D8 | 0,689 | 0,802 | 0,113 | | | H2 | 0,366 | 0,755 | 0,389 | |
| | E8 | 0,419 | 0,436 | 0,017 | | | A3 | 0,404 | 0,825 | 0,421 | |
| Cu ²⁺ | F8 | 0,477 | 0,476 | -0,001 | | Fe ²⁺ | B3 | 0,456 | 0,819 | 0,363 | |
| | G8 | 0,421 | 0,432 | 0,011 | | | C3 | 0,398 | 0,817 | 0,419 | |
| | H8 | 0,515 | 0,517 | 0,002 | | | D3 | 0,358 | 0,365 | 0,007 | |
| Pb ²⁺ | A9 | 0,798 | 0,88 | 0,082 | | Fe ³⁺ | E3 | 0,37 | 0,375 | 0,005 | |
| | B9 | 0,723 | 0,775 | 0,052 | | | F3 | 0,463 | 0,856 | 0,393 | |
| | C9 | 0,802 | 0,898 | 0,096 | | | G3 | 0,436 | 0,812 | 0,376 | |
| Cu ²⁺ | D9 | 0,722 | 0,842 | 0,12 | | Fe ³⁺ | H3 | 0,383 | 0,761 | 0,378 | |

| | | | | | | | | | | | |
|------------------|-----|-------|-------|--------|---------|------------------|-----|-------|-------|--------|--------|
| Fe ²⁺ | A4 | 0,404 | 0,807 | 0,403 | 0,17 mM | Fe ³⁺ | E10 | 0,419 | 0,48 | 0,061 | 6,0 mM |
| | B4 | 0,422 | 0,812 | 0,39 | | | F10 | 0,469 | 0,517 | 0,048 | |
| | C4 | 0,389 | 0,853 | 0,464 | | | G10 | 0,446 | 0,509 | 0,063 | |
| | D4 | 0,362 | 0,383 | 0,021 | | | H10 | 0,523 | 0,547 | 0,024 | |
| Fe ³⁺ | E4 | 0,395 | 0,408 | 0,013 | 0,3 mM | Fe ²⁺ | A11 | 0,594 | 0,873 | 0,279 | |
| | F4 | 0,457 | 0,905 | 0,448 | | | B11 | 0,513 | 0,717 | 0,204 | |
| | G4 | 0,442 | 0,818 | 0,376 | | | C11 | 0,54 | 0,769 | 0,229 | |
| Fe ²⁺ | H4 | 0,523 | 0,859 | 0,336 | 0,5 mM | Fe ³⁺ | D11 | 0,483 | 0,57 | 0,087 | |
| | A5 | 0,434 | 0,848 | 0,414 | | | E11 | 0,383 | 0,404 | 0,021 | |
| | B5 | 0,457 | 0,83 | 0,373 | | | F11 | 0,469 | 0,494 | 0,025 | |
| | C5 | 0,433 | 0,876 | 0,443 | | | G11 | 0,447 | 0,48 | 0,033 | |
| Fe ³⁺ | D5 | 0,39 | 0,412 | 0,022 | 0,8 mM | Fe ²⁺ | H11 | 0,447 | 0,501 | 0,054 | |
| | E5 | 0,485 | 0,472 | -0,013 | | | A12 | 0,615 | 0,837 | 0,222 | |
| | F5 | 0,521 | 0,937 | 0,416 | | | B12 | 0,533 | 0,784 | 0,251 | |
| Fe ²⁺ | G5 | 0,483 | 0,863 | 0,38 | 0,5 mM | Fe ³⁺ | C12 | 0,562 | 0,927 | 0,365 | |
| | H5 | 0,575 | 0,888 | 0,313 | | | D12 | 0,517 | 0,551 | 0,034 | |
| | A6 | 0,509 | 0,894 | 0,385 | | | E12 | 0,374 | 0,39 | 0,016 | |
| | B6 | 0,454 | 0,83 | 0,376 | | | F12 | 0,449 | 0,479 | 0,03 | |
| Fe ³⁺ | C6 | 0,46 | 0,927 | 0,467 | 0,8 mM | Cr ³⁺ | G12 | 0,43 | 0,478 | 0,048 | |
| | D6 | 0,429 | 0,447 | 0,018 | | | H12 | 0,494 | 0,498 | 0,004 | |
| | E6 | 0,472 | 0,455 | -0,017 | | | A1 | 0,328 | 0,663 | 0,335 | |
| | F6 | 0,558 | 0,842 | 0,284 | | | B1 | 0,326 | 0,73 | 0,404 | |
| Fe ²⁺ | G6 | 0,478 | 0,807 | 0,329 | 1,3 mM | Sn ²⁺ | C1 | 0,355 | 0,752 | 0,397 | |
| | H6 | 0,49 | 0,828 | 0,338 | | | D1 | 0,382 | 0,44 | 0,058 | |
| | A7 | 0,527 | 0,894 | 0,367 | | | E1 | 0,404 | 0,436 | 0,032 | |
| | B7 | 0,479 | 0,832 | 0,353 | | | F1 | 0,329 | 0,755 | 0,426 | |
| Fe ³⁺ | C7 | 0,476 | 0,843 | 0,367 | 2,2 mM | Cr ³⁺ | G1 | 0,337 | 0,75 | 0,413 | |
| | D7 | 0,404 | 0,449 | 0,045 | | | H1 | 0,417 | 0,742 | 0,325 | |
| | E7 | 0,479 | 0,529 | 0,05 | | | A2 | 0,335 | 0,778 | 0,443 | |
| | F7 | 0,536 | 0,533 | -0,003 | | | B2 | 0,344 | 0,714 | 0,37 | |
| Fe ²⁺ | G7 | 0,46 | 0,481 | 0,021 | 3,6 mM | Sn ²⁺ | C2 | 0,352 | 0,728 | 0,376 | |
| | H7 | 0,486 | 0,526 | 0,04 | | | D2 | 0,441 | 0,457 | 0,016 | |
| | A8 | 0,442 | 0,929 | 0,487 | | | E2 | 0,479 | 0,477 | -0,002 | |
| | B8 | 0,469 | 0,606 | 0,137 | | | F2 | 0,333 | 0,678 | 0,345 | |
| Fe ³⁺ | C8 | 0,463 | 0,766 | 0,303 | 0,4 mM | Cr ³⁺ | G2 | 0,353 | 0,745 | 0,392 | |
| | D8 | 0,428 | 0,484 | 0,056 | | | H2 | 0,363 | 0,772 | 0,409 | |
| | E8 | 0,461 | 0,533 | 0,072 | | | A3 | 0,32 | 0,669 | 0,349 | |
| | F8 | 0,542 | 0,573 | 0,031 | | | B3 | 0,334 | 0,689 | 0,355 | |
| Fe ²⁺ | G8 | 0,48 | 0,509 | 0,029 | 0,7 mM | Sn ²⁺ | C3 | 0,351 | 0,727 | 0,376 | |
| | H8 | 0,506 | 0,549 | 0,043 | | | D3 | 0,344 | 0,42 | 0,076 | |
| | A9 | 0,567 | 0,758 | 0,191 | | | E3 | 0,366 | 0,417 | 0,051 | |
| | B9 | 0,562 | 0,796 | 0,234 | | | F3 | 0,359 | 0,709 | 0,35 | |
| Fe ³⁺ | C9 | 0,511 | 0,706 | 0,195 | 3,6 mM | Cr ³⁺ | G3 | 0,433 | 0,782 | 0,349 | |
| | D9 | 0,418 | 0,548 | 0,13 | | | H3 | 0,374 | 0,713 | 0,339 | |
| | E9 | 0,442 | 0,505 | 0,063 | | | A4 | 0,35 | 0,613 | 0,263 | |
| | F9 | 0,51 | 0,57 | 0,06 | | | B4 | 0,344 | 0,675 | 0,331 | |
| Fe ²⁺ | G9 | 0,45 | 0,54 | 0,09 | 0,7 mM | Sn ²⁺ | C4 | 0,365 | 0,582 | 0,217 | |
| | H9 | 0,513 | 0,572 | 0,059 | | | D4 | 0,359 | 0,444 | 0,085 | |
| | A10 | 0,611 | 0,792 | 0,181 | | | E4 | 0,468 | 0,5 | 0,032 | |
| | B10 | 0,496 | 0,729 | 0,233 | | | F4 | 0,373 | 0,523 | 0,15 | |
| Fe ²⁺ | C10 | 0,511 | 0,729 | 0,218 | 3,6 mM | Sn ²⁺ | G4 | 0,371 | 0,655 | 0,284 | |
| | D10 | 0,451 | 0,579 | 0,128 | | | H4 | 0,375 | 0,458 | 0,083 | |

| | | | | | | | | | | | |
|------------------|-----|-------|-------|-------|---------|-------------------------------|-----|-------|-------|--------|---------|
| Cr ³⁺ | A5 | 0,324 | 0,474 | 0,15 | 1,1 mM | Sn ²⁺ | E11 | 0,55 | 0,622 | 0,072 | |
| | B5 | 0,352 | 0,509 | 0,157 | | | F11 | 0,436 | 0,587 | 0,151 | |
| | C5 | 0,35 | 0,467 | 0,117 | | | G11 | 0,443 | 0,595 | 0,152 | |
| Sn ²⁺ | D5 | 0,353 | 0,434 | 0,081 | | Cr ³⁺ | H11 | 0,452 | 0,634 | 0,182 | 40,0 mM |
| | E5 | 0,425 | 0,47 | 0,045 | | | A12 | 0,679 | 0,735 | 0,056 | |
| | F5 | 0,4 | 0,423 | 0,023 | | | B12 | 0,637 | 0,727 | 0,09 | |
| Cr ³⁺ | G5 | 0,449 | 0,512 | 0,063 | 1,9 mM | Sn ²⁺ | C12 | 0,655 | 0,744 | 0,089 | |
| | H5 | 0,507 | 0,513 | 0,006 | | | D12 | 0,704 | 0,766 | 0,062 | |
| | A6 | 0,337 | 0,489 | 0,152 | | | E12 | 0,534 | 0,712 | 0,178 | |
| Sn ²⁺ | B6 | 0,347 | 0,458 | 0,111 | | Hg ₂ ²⁺ | F12 | 0,478 | 0,768 | 0,29 | 0,0 mM |
| | C6 | 0,375 | 0,484 | 0,109 | | | G12 | 0,512 | 0,79 | 0,278 | |
| | D6 | 0,346 | 0,444 | 0,098 | | | H12 | 0,497 | 0,796 | 0,299 | |
| Cr ³⁺ | E6 | 0,425 | 0,481 | 0,056 | 3,1 mM | Hg ²⁺ | A1 | 0,412 | 0,717 | 0,305 | |
| | F6 | 0,434 | 0,47 | 0,036 | | | B1 | 0,45 | 0,696 | 0,246 | |
| | G6 | 0,467 | 0,493 | 0,026 | | | C1 | 0,392 | 0,394 | 0,002 | |
| Sn ²⁺ | H6 | 0,496 | 0,527 | 0,031 | | Hg ₂ ²⁺ | D1 | 0,347 | 0,341 | -0,006 | 0,0 mM |
| | A7 | 0,348 | 0,489 | 0,141 | | | E1 | 0,4 | 0,379 | -0,021 | |
| | B7 | 0,342 | 0,451 | 0,109 | | | F1 | 0,414 | 0,416 | 0,002 | |
| Cr ³⁺ | C7 | 0,369 | 0,462 | 0,093 | 5,2 mM | Hg ²⁺ | G1 | 0,392 | 1,072 | 0,68 | |
| | D7 | 0,424 | 0,504 | 0,08 | | | H1 | 0,427 | 0,462 | 0,035 | |
| | E7 | 0,509 | 0,553 | 0,044 | | | A2 | 0,448 | 0,76 | 0,312 | |
| Sn ²⁺ | F7 | 0,385 | 0,505 | 0,12 | | Hg ₂ ²⁺ | B2 | 0,471 | 0,759 | 0,288 | 0,10 mM |
| | G7 | 0,379 | 0,472 | 0,093 | | | C2 | 0,41 | 0,405 | -0,005 | |
| | H7 | 0,378 | 0,5 | 0,122 | | | D2 | 0,378 | 0,382 | 0,004 | |
| Cr ³⁺ | A8 | 0,361 | 0,496 | 0,135 | 8,6 mM | Hg ²⁺ | E2 | 0,419 | 0,415 | -0,004 | |
| | B8 | 0,351 | 0,457 | 0,106 | | | F2 | 0,463 | 0,455 | -0,008 | |
| | C8 | 0,379 | 0,48 | 0,101 | | | G2 | 0,387 | 1,109 | 0,722 | |
| Sn ²⁺ | D8 | 0,44 | 0,506 | 0,066 | | Hg ₂ ²⁺ | H2 | 0,398 | 0,42 | 0,022 | 0,17 mM |
| | E8 | 0,48 | 0,535 | 0,055 | | | A3 | 0,418 | 0,421 | 0,003 | |
| | F8 | 0,388 | 0,533 | 0,145 | | | B3 | 0,448 | 0,441 | -0,007 | |
| Cr ³⁺ | G8 | 0,387 | 0,543 | 0,156 | 14,4 mM | Hg ²⁺ | C3 | 0,402 | 0,407 | 0,005 | |
| | H8 | 0,423 | 0,557 | 0,134 | | | D3 | 0,385 | 0,373 | -0,012 | |
| | A9 | 0,412 | 0,554 | 0,142 | | | E3 | 0,442 | 0,43 | -0,012 | |
| Sn ²⁺ | B9 | 0,367 | 0,48 | 0,113 | | Hg ₂ ²⁺ | F3 | 0,448 | 0,45 | 0,002 | 0,3 mM |
| | C9 | 0,379 | 0,462 | 0,083 | | | G3 | 0,408 | 0,431 | 0,023 | |
| | D9 | 0,41 | 0,531 | 0,121 | | | H3 | 0,424 | 0,451 | 0,027 | |
| Cr ³⁺ | E9 | 0,457 | 0,536 | 0,079 | 24,0 mM | Hg ²⁺ | A4 | 0,431 | 0,425 | -0,006 | |
| | F9 | 0,394 | 0,521 | 0,127 | | | B4 | 0,458 | 0,447 | -0,011 | |
| | G9 | 0,381 | 0,553 | 0,172 | | | C4 | 0,41 | 0,411 | 0,001 | |
| Sn ²⁺ | H9 | 0,386 | 0,538 | 0,152 | | Hg ₂ ²⁺ | D4 | 0,38 | 0,376 | -0,004 | 0,3 mM |
| | A10 | 0,446 | 0,582 | 0,136 | | | E4 | 0,462 | 0,419 | -0,043 | |
| | B10 | 0,395 | 0,502 | 0,107 | | | F4 | 0,506 | 0,465 | -0,041 | |
| Cr ³⁺ | C10 | 0,471 | 0,536 | 0,065 | | Hg ²⁺ | G4 | 0,436 | 0,447 | 0,011 | |
| | D10 | 0,482 | 0,59 | 0,108 | | | H4 | 0,503 | 0,488 | -0,015 | |
| | E10 | 0,491 | 0,581 | 0,09 | | | A5 | 0,46 | 0,455 | -0,005 | |
| Sn ²⁺ | F10 | 0,421 | 0,544 | 0,123 | | Hg ₂ ²⁺ | B5 | 0,433 | 0,429 | -0,004 | |
| | G10 | 0,451 | 0,561 | 0,11 | | | C5 | 0,42 | 0,396 | -0,024 | |
| | H10 | 0,482 | 0,594 | 0,112 | | | D5 | 0,399 | 0,385 | -0,014 | |
| Cr ³⁺ | A11 | 0,553 | 0,618 | 0,065 | | Hg ²⁺ | E5 | 0,446 | 0,442 | -0,004 | |
| | B11 | 0,482 | 0,566 | 0,084 | | | F5 | 0,49 | 0,473 | -0,017 | |
| | C11 | 0,542 | 0,611 | 0,069 | | | G5 | 0,462 | 0,44 | -0,022 | |
| | D11 | 0,561 | 0,694 | 0,133 | | | H5 | 0,518 | 0,509 | -0,009 | |

| | | | | | | | | | | | |
|------------------|-----|-------|-------|--------|---------|------------------|-----|-------|-------|--------|---------|
| Hg ²⁺ | A6 | 0,483 | 0,456 | -0,027 | 0,5 mM | Hg ²⁺ | E12 | 0,541 | 0,557 | 0,016 | |
| | B6 | 0,473 | 0,466 | -0,007 | | | F12 | 0,555 | 0,608 | 0,053 | |
| | C6 | 0,425 | 0,411 | -0,014 | | | G12 | 0,526 | 0,617 | 0,091 | |
| | D6 | 0,411 | 0,392 | -0,019 | | | H12 | 0,571 | 0,654 | 0,083 | |
| Hg ²⁺ | E6 | 0,48 | 0,473 | -0,007 | 0,8 mM | Mg ²⁺ | A1 | 0,353 | 0,663 | 0,31 | 0,0 mM |
| | F6 | 0,513 | 0,514 | 0,001 | | | B1 | 0,441 | 0,777 | 0,336 | |
| | G6 | 0,581 | 0,553 | -0,028 | | | C1 | 0,37 | 0,69 | 0,32 | |
| | H6 | 0,529 | 0,485 | -0,044 | | | D1 | 0,372 | 0,388 | 0,016 | |
| Hg ²⁺ | A7 | 0,5 | 0,477 | -0,023 | 0,8 mM | Mn ²⁺ | E1 | 0,361 | 0,347 | -0,014 | |
| | B7 | 0,488 | 0,462 | -0,026 | | | F1 | 0,4 | 0,731 | 0,331 | |
| | C7 | 0,451 | 0,43 | -0,021 | | | G1 | 0,409 | 0,738 | 0,329 | |
| | D7 | 0,436 | 0,419 | -0,017 | | | H1 | 0,375 | 0,684 | 0,309 | |
| Hg ²⁺ | E7 | 0,556 | 0,54 | -0,016 | 1,3 mM | Mg ²⁺ | A2 | 0,413 | 0,723 | 0,31 | |
| | F7 | 0,548 | 0,516 | -0,032 | | | B2 | 0,414 | 0,724 | 0,31 | |
| | G7 | 0,54 | 0,528 | -0,012 | | | C2 | 0,382 | 0,674 | 0,292 | |
| | H7 | 0,533 | 0,548 | 0,015 | | | D2 | 0,387 | 0,382 | -0,005 | |
| Hg ²⁺ | A8 | 0,562 | 0,536 | -0,026 | 1,3 mM | Mn ²⁺ | E2 | 0,397 | 0,376 | -0,021 | |
| | B8 | 0,565 | 0,535 | -0,03 | | | F2 | 0,424 | 0,704 | 0,28 | |
| | C8 | 0,509 | 0,492 | -0,017 | | | G2 | 0,401 | 0,746 | 0,345 | |
| | D8 | 0,483 | 0,483 | 0 | | | H2 | 0,396 | 0,709 | 0,313 | |
| Hg ²⁺ | E8 | 0,564 | 0,555 | -0,009 | 2,2 mM | Mg ²⁺ | A3 | 0,414 | 0,67 | 0,256 | 8,1 mM |
| | F8 | 0,568 | 0,547 | -0,021 | | | B3 | 0,452 | 0,691 | 0,239 | |
| | G8 | 0,568 | 0,561 | -0,007 | | | C3 | 0,383 | 0,651 | 0,268 | |
| | H8 | 0,568 | 0,564 | -0,004 | | | D3 | 0,423 | 0,363 | -0,06 | |
| Hg ²⁺ | A9 | 0,602 | 0,583 | -0,019 | 2,2 mM | Mn ²⁺ | E3 | 0,388 | 0,394 | 0,006 | |
| | B9 | 0,61 | 0,606 | -0,004 | | | F3 | 0,373 | 0,643 | 0,27 | |
| | C9 | 0,652 | 0,631 | -0,021 | | | G3 | 0,413 | 0,709 | 0,296 | |
| | D9 | 0,615 | 0,624 | 0,009 | | | H3 | 0,372 | 0,681 | 0,309 | |
| Hg ²⁺ | E9 | 0,508 | 0,574 | 0,066 | 3,6 mM | Mg ²⁺ | A4 | 0,382 | 0,663 | 0,281 | 13,4 mM |
| | F9 | 0,513 | 0,578 | 0,065 | | | B4 | 0,395 | 0,66 | 0,265 | |
| | G9 | 0,531 | 0,596 | 0,065 | | | C4 | 0,377 | 0,666 | 0,289 | |
| | H9 | 0,636 | 0,683 | 0,047 | | | D4 | 0,381 | 0,369 | -0,012 | |
| Hg ²⁺ | A10 | 0,755 | 0,735 | -0,02 | 3,6 mM | Mn ²⁺ | E4 | 0,398 | 0,394 | -0,004 | |
| | B10 | 0,669 | 0,651 | -0,018 | | | F4 | 0,409 | 0,489 | 0,08 | |
| | C10 | 0,693 | 0,687 | -0,006 | | | G4 | 0,443 | 0,781 | 0,338 | |
| | D10 | 0,674 | 0,661 | -0,013 | | | H4 | 0,378 | 0,691 | 0,313 | |
| Hg ²⁺ | E10 | 0,517 | 0,537 | 0,02 | 6,0 mM | Mg ²⁺ | A5 | 0,465 | 0,713 | 0,248 | 22,4 mM |
| | F10 | 0,569 | 0,61 | 0,041 | | | B5 | 0,387 | 0,657 | 0,27 | |
| | G10 | 0,548 | 0,603 | 0,055 | | | C5 | 0,389 | 0,671 | 0,282 | |
| | H10 | 0,571 | 0,647 | 0,076 | | | D5 | 0,381 | 0,374 | -0,007 | |
| Hg ²⁺ | A11 | 0,865 | 0,902 | 0,037 | 6,0 mM | Mn ²⁺ | E5 | 0,408 | 0,391 | -0,017 | |
| | B11 | 0,7 | 0,737 | 0,037 | | | F5 | 0,417 | 0,687 | 0,27 | |
| | C11 | 0,707 | 0,808 | 0,101 | | | G5 | 0,474 | 0,8 | 0,326 | |
| | D11 | 0,708 | 0,757 | 0,049 | | | H5 | 0,405 | 0,67 | 0,265 | |
| Hg ²⁺ | E11 | 0,505 | 0,576 | 0,071 | 10,0 mM | Mg ²⁺ | A6 | 0,43 | 0,7 | 0,27 | 37,3 mM |
| | F11 | 0,568 | 0,617 | 0,049 | | | B6 | 0,394 | 0,659 | 0,265 | |
| | G11 | 0,507 | 0,56 | 0,053 | | | C6 | 0,364 | 0,672 | 0,308 | |
| | H11 | 0,595 | 0,684 | 0,089 | | | D6 | 0,36 | 0,352 | -0,008 | |
| Hg ²⁺ | A12 | 0,702 | 0,819 | 0,117 | 10,0 mM | Mn ²⁺ | E6 | 0,386 | 0,382 | -0,004 | |
| | B12 | 0,639 | 0,783 | 0,144 | | | F6 | 0,399 | 0,605 | 0,206 | |
| | C12 | 0,595 | 0,705 | 0,11 | | | G6 | 0,443 | 0,839 | 0,396 | |
| | D12 | 0,492 | 0,622 | 0,13 | | | H6 | 0,384 | 0,652 | 0,268 | |

| | | | | | | | | | | |
|---------------------------------|-----|-------|-------|-------|---------|----|-------|-------|-------|---------|
| | A7 | 0,386 | 0,723 | 0,337 | 0,33 mM | E1 | 0,436 | 0,615 | 0,179 | |
| | B7 | 0,345 | 0,752 | 0,407 | | F1 | 0,371 | 0,413 | 0,042 | |
| | C7 | 0,379 | 0,389 | 0,01 | | G1 | 0,368 | 0,456 | 0,088 | |
| | D7 | 0,45 | 0,83 | 0,38 | | H1 | 0,433 | 0,667 | 0,234 | |
| | E7 | 0,517 | 0,725 | 0,208 | | A2 | 0,433 | 0,485 | 0,052 | 7,2 mM |
| | F7 | 0,399 | 0,407 | 0,008 | | B2 | 0,559 | 0,692 | 0,133 | |
| | G7 | 0,407 | 0,546 | 0,139 | | C2 | 0,428 | 0,524 | 0,096 | |
| | H7 | 0,391 | 0,414 | 0,023 | | D2 | 0,476 | 0,509 | 0,033 | |
| | A8 | 0,407 | 0,452 | 0,045 | 0,93 mM | E2 | 0,471 | 0,499 | 0,028 | |
| | B8 | 0,381 | 0,456 | 0,075 | | F2 | 0,437 | 0,464 | 0,027 | |
| | C8 | 0,4 | 0,41 | 0,01 | | G2 | 0,45 | 0,504 | 0,054 | |
| | D8 | 0,462 | 0,456 | -0,01 | | H2 | 0,485 | 0,611 | 0,126 | |
| | E8 | 0,491 | 0,498 | 0,007 | | A3 | 0,369 | 0,607 | 0,238 | 1,6 mM |
| | F8 | 0,42 | 0,416 | 0,0 | | B3 | 0,49 | 0,754 | 0,264 | |
| | G8 | 0,391 | 0,417 | 0,026 | | C3 | 0,394 | 0,498 | 0,104 | |
| | H8 | 0,416 | 0,418 | 0,002 | | D3 | 0,409 | 0,497 | 0,088 | |
| | A9 | 0,413 | 0,463 | 0,05 | 1,60 mM | E3 | 0,432 | 0,658 | 0,226 | |
| | B9 | 0,388 | 0,444 | 0,056 | | F3 | 0,378 | 0,44 | 0,062 | |
| | C9 | 0,393 | 0,421 | 0,028 | | G3 | 0,373 | 0,468 | 0,095 | |
| | D9 | 0,458 | 0,445 | -0,01 | | H3 | 0,442 | 0,742 | 0,3 | |
| | E9 | 0,424 | 0,447 | 0,023 | | A4 | 0,418 | 0,536 | 0,118 | 4,3 mM |
| | F9 | 0,399 | 0,412 | 0,013 | | B4 | 0,507 | 0,668 | 0,161 | |
| | G9 | 0,398 | 0,408 | 0,01 | | C4 | 0,416 | 0,526 | 0,11 | |
| | H9 | 0,454 | 0,464 | 0,01 | | D4 | 0,415 | 0,473 | 0,058 | |
| | A10 | 0,421 | 0,56 | 0,139 | 0,56 mM | E4 | 0,452 | 0,544 | 0,092 | |
| | B10 | 0,415 | 0,462 | 0,047 | | F4 | 0,413 | 0,451 | 0,038 | |
| | C10 | 0,402 | 0,4 | 0,0 | | G4 | 0,441 | 0,55 | 0,109 | |
| | D10 | 0,465 | 0,689 | 0,224 | | H4 | 0,478 | 0,735 | 0,257 | |
| | E10 | 0,478 | 0,494 | 0,016 | | A5 | 0,478 | 0,531 | 0,053 | 12,0 mM |
| | F10 | 0,422 | 0,41 | -0,01 | | B5 | 0,574 | 0,673 | 0,099 | |
| | G10 | 0,387 | 0,389 | 0,002 | | C5 | 0,479 | 0,561 | 0,082 | |
| | H10 | 0,436 | 0,41 | -0,03 | | D5 | 0,476 | 0,52 | 0,044 | |
| | A11 | 0,388 | 0,692 | 0,304 | 0,20 mM | E5 | 0,504 | 0,523 | 0,019 | |
| | B11 | 0,356 | 0,653 | 0,297 | | F5 | 0,452 | 0,495 | 0,043 | |
| | C11 | 0,363 | 0,389 | 0,026 | | G5 | 0,489 | 0,562 | 0,073 | |
| | D11 | 0,448 | 0,804 | 0,356 | | H5 | 0,542 | 0,722 | 0,18 | |
| | E11 | 0,479 | 0,729 | 0,25 | | A6 | 0,388 | 0,754 | 0,366 | 0,0 mM |
| | F11 | 0,366 | 0,38 | 0,014 | | B6 | 0,45 | 0,88 | 0,43 | |
| | G11 | 0,406 | 0,662 | 0,256 | | C6 | 0,364 | 0,467 | 0,103 | |
| | H11 | 0,405 | 0,652 | 0,247 | | D6 | 0,372 | 0,659 | 0,287 | |
| | A12 | 0,445 | 0,707 | 0,262 | 0,0 mM | E6 | 0,394 | 0,674 | 0,28 | |
| | B12 | 0,366 | 0,673 | 0,307 | | F6 | 0,335 | 0,406 | 0,071 | |
| | C12 | 0,352 | 0,436 | 0,084 | | G6 | 0,342 | 0,814 | 0,472 | |
| | D12 | 0,409 | 0,815 | 0,406 | | H6 | 0,425 | 1,003 | 0,578 | |
| | E12 | 0,567 | 0,982 | 0,415 | | A7 | 0,416 | 0,664 | 0,248 | 2,6 mM |
| | F12 | 0,32 | 0,375 | 0,055 | | B7 | 0,443 | 0,702 | 0,259 | |
| | G12 | 0,372 | 0,664 | 0,292 | | C7 | 0,385 | 0,498 | 0,113 | |
| | H12 | 0,412 | 0,736 | 0,324 | | D7 | 0,397 | 0,486 | 0,089 | |
| HAsO ₄ ²⁻ | A1 | 0,361 | 0,405 | 0,044 | 2,6 mM | E7 | 0,432 | 0,542 | 0,11 | |
| | B1 | 0,445 | 0,681 | 0,236 | | F7 | 0,405 | 0,457 | 0,052 | |
| | C1 | 0,371 | 0,459 | 0,088 | | G7 | 0,427 | 0,635 | 0,208 | |
| | D1 | 0,398 | 0,589 | 0,191 | | H7 | 0,465 | 0,794 | 0,329 | |

| | | | | | | | | | |
|---------------------|-------|-------|-------|---------|----|-------|-------|--------|---------|
| A8 | 0,427 | 0,722 | 0,295 | 1,6 mM | E2 | 0,42 | 0,528 | 0,108 | |
| B8 | 0,424 | 0,685 | 0,261 | | F2 | 0,382 | 0,421 | 0,039 | |
| C8 | 0,372 | 0,483 | 0,111 | | G2 | 0,383 | 0,556 | 0,173 | |
| D8 | 0,383 | 0,563 | 0,18 | | H2 | 0,441 | 0,801 | 0,36 | |
| E8 | 0,433 | 0,499 | 0,066 | | A3 | 0,389 | 0,825 | 0,436 | 0,0 mM |
| F8 | 0,406 | 0,451 | 0,045 | | B3 | 0,385 | 0,687 | 0,302 | |
| G8 | 0,45 | 0,661 | 0,211 | | C3 | 0,387 | 0,434 | 0,047 | |
| H8 | 0,556 | 0,844 | 0,288 | | D3 | 0,462 | 0,95 | 0,488 | |
| A9 | 0,491 | 0,643 | 0,152 | 7,2 mM | E3 | 0,439 | 0,723 | 0,284 | |
| B9 | 0,47 | 0,601 | 0,131 | | F3 | 0,39 | 0,414 | 0,024 | |
| C9 | 0,439 | 0,509 | 0,07 | | G3 | 0,404 | 0,734 | 0,33 | |
| D9 | 0,449 | 0,476 | 0,027 | | H3 | 0,406 | 0,881 | 0,475 | |
| E9 | 0,489 | 0,494 | 0,005 | | A4 | 0,414 | 0,486 | 0,072 | 2,6 mM |
| F9 | 0,453 | 0,486 | 0,033 | | B4 | 0,412 | 0,432 | 0,02 | |
| G9 | 0,486 | 0,576 | 0,09 | | C4 | 0,399 | 0,437 | 0,038 | |
| H9 | 0,539 | 0,785 | 0,246 | | D4 | 0,479 | 0,827 | 0,348 | |
| A10 | 0,558 | 0,595 | 0,037 | 12,0 mM | E4 | 0,426 | 0,466 | 0,04 | |
| B10 | 0,507 | 0,552 | 0,045 | | F4 | 0,398 | 0,428 | 0,03 | |
| C10 | 0,47 | 0,541 | 0,071 | | G4 | 0,405 | 0,54 | 0,135 | |
| D10 | 0,466 | 0,547 | 0,081 | | H4 | 0,457 | 0,781 | 0,324 | |
| E10 | 0,525 | 0,541 | 0,016 | | A5 | 0,399 | 0,41 | 0,011 | 12,0 mM |
| F10 | 0,49 | 0,517 | 0,027 | | B5 | 0,403 | 0,426 | 0,023 | |
| G10 | 0,532 | 0,565 | 0,033 | | C5 | 0,391 | 0,421 | 0,03 | |
| H10 | 0,544 | 0,719 | 0,175 | | D5 | 0,477 | 0,499 | 0,022 | |
| A11 | 0,45 | 0,922 | 0,472 | 0,0 mM | E5 | 0,428 | 0,452 | 0,024 | |
| B11 | 0,372 | 0,783 | 0,411 | | F5 | 0,399 | 0,441 | 0,042 | |
| C11 | 0,352 | 0,446 | 0,094 | | G5 | 0,372 | 0,452 | 0,08 | |
| D11 | 0,418 | 0,888 | 0,47 | | H5 | 0,516 | 0,712 | 0,196 | |
| E11 | 0,416 | 0,713 | 0,297 | | A6 | 0,402 | 0,427 | 0,025 | 4,3 mM |
| F11 | 0,313 | 0,427 | 0,114 | | B6 | 0,443 | 0,431 | -0,012 | |
| G11 | 0,395 | 0,826 | 0,431 | | C6 | 0,384 | 0,421 | 0,037 | |
| H11 | 0,511 | 0,871 | 0,36 | | D6 | 0,479 | 0,706 | 0,227 | |
| A12 | 0,552 | 0,71 | 0,158 | 4,3 mM | E6 | 0,425 | 0,441 | 0,016 | |
| B12 | 0,455 | 0,478 | 0,023 | | F6 | 0,401 | 0,429 | 0,028 | |
| C12 | 0,409 | 0,439 | 0,03 | | G6 | 0,426 | 0,512 | 0,086 | |
| D12 | 0,465 | 0,562 | 0,097 | | H6 | 0,487 | 0,767 | 0,28 | |
| E12 | 0,432 | 0,469 | 0,037 | | A7 | 0,392 | 0,378 | -0,014 | 2,6 mM |
| F12 | 0,423 | 0,434 | 0,011 | | B7 | 0,418 | 0,496 | 0,078 | |
| G12 | 0,457 | 0,615 | 0,158 | | C7 | 0,382 | 0,385 | 0,003 | |
| H12 | 0,525 | 0,676 | 0,151 | | D7 | 0,493 | 0,792 | 0,299 | |
| Be ²⁺ A1 | 0,431 | 0,489 | 0,058 | 7,2 mM | E7 | 0,426 | 0,488 | 0,062 | |
| B1 | 0,357 | 0,385 | 0,028 | | F7 | 0,41 | 0,445 | 0,035 | |
| C1 | 0,352 | 0,419 | 0,067 | | G7 | 0,415 | 0,704 | 0,289 | |
| D1 | 0,463 | 0,669 | 0,206 | | H7 | 0,462 | 0,785 | 0,323 | |
| E1 | 0,43 | 0,44 | 0,01 | | A8 | 0,376 | 0,363 | -0,013 | 7,2 mM |
| F1 | 0,38 | 0,397 | 0,017 | | B8 | 0,41 | 0,403 | -0,007 | |
| G1 | 0,357 | 0,423 | 0,066 | | C8 | 0,388 | 0,391 | 0,003 | |
| H1 | 0,432 | 0,686 | 0,254 | | D8 | 0,467 | 0,491 | 0,024 | |
| A2 | 0,427 | 0,724 | 0,297 | 1,6 mM | E8 | 0,434 | 0,428 | -0,006 | |
| B2 | 0,402 | 0,511 | 0,109 | | F8 | 0,416 | 0,448 | 0,032 | |
| C2 | 0,384 | 0,442 | 0,058 | | G8 | 0,44 | 0,497 | 0,057 | |
| D2 | 0,484 | 0,826 | 0,342 | | H8 | 0,374 | 0,432 | 0,058 | |

| | | | | | | | | | |
|---------------------|-------|-------|--------|-------------|----|-------|-------|--------|-------------|
| A9 | 0,371 | 0,376 | 0,005 | 12,0 mM | E3 | 0,461 | 0,55 | 0,089 | |
| B9 | 0,431 | 0,415 | -0,016 | | F3 | 0,389 | 0,398 | 0,009 | |
| C9 | 0,39 | 0,41 | 0,02 | | G3 | 0,408 | 0,616 | 0,208 | |
| D9 | 0,469 | 0,467 | -0,002 | | H3 | 0,409 | 0,453 | 0,044 | |
| E9 | 0,451 | 0,447 | -0,004 | | A4 | 0,449 | 0,869 | 0,42 | 0,0 mM |
| F9 | 0,43 | 0,451 | 0,021 | | B4 | 0,482 | 0,916 | 0,434 | |
| G9 | 0,445 | 0,499 | 0,054 | | C4 | 0,439 | 0,421 | -0,018 | |
| H9 | 0,386 | 0,434 | 0,048 | | D4 | 0,426 | 0,909 | 0,483 | |
| A10 | 0,428 | 0,541 | 0,113 | 1,6 mM | E4 | 0,45 | 0,837 | 0,387 | |
| B10 | 0,441 | 0,764 | 0,323 | | F4 | 0,383 | 0,396 | 0,013 | |
| C10 | 0,388 | 0,39 | 0,002 | | G4 | 0,454 | 0,915 | 0,461 | |
| D10 | 0,473 | 0,708 | 0,235 | | H4 | 0,423 | 0,85 | 0,427 | |
| E10 | 0,427 | 0,443 | 0,016 | | A5 | 0,407 | 0,427 | 0,02 | 0,93 mM |
| F10 | 0,417 | 0,436 | 0,019 | | B5 | 0,404 | 0,537 | 0,133 | |
| G10 | 0,502 | 0,761 | 0,259 | | C5 | 0,399 | 0,384 | -0,015 | |
| H10 | 0,342 | 0,513 | 0,171 | | D5 | 0,446 | 0,425 | -0,021 | |
| A11 | 0,363 | 0,588 | 0,225 | 0,0 mM | E5 | 0,467 | 0,443 | -0,024 | |
| B11 | 0,395 | 0,845 | 0,45 | | F5 | 0,419 | 0,385 | -0,034 | |
| C11 | 0,365 | 0,401 | 0,036 | | G5 | 0,41 | 0,461 | 0,051 | |
| D11 | 0,408 | 0,807 | 0,399 | | H5 | 0,399 | 0,413 | 0,014 | |
| E11 | 0,402 | 0,675 | 0,273 | | A6 | 0,419 | 0,447 | 0,028 | 1,60 mM |
| F11 | 0,37 | 0,42 | 0,05 | | B6 | 0,407 | 0,456 | 0,049 | |
| G11 | 0,422 | 0,894 | 0,472 | | C6 | 0,409 | 0,426 | 0,017 | |
| H11 | 0,423 | 0,837 | 0,414 | | D6 | 0,412 | 0,432 | 0,02 | |
| A12 | 0,438 | 0,426 | -0,012 | 4,3 mM | E6 | 0,439 | 0,451 | 0,012 | |
| B12 | 0,467 | 0,723 | 0,256 | | F6 | 0,368 | 0,407 | 0,039 | |
| C12 | 0,405 | 0,423 | 0,018 | | G6 | 0,381 | 0,415 | 0,034 | |
| D12 | 0,444 | 0,482 | 0,038 | | H6 | 0,403 | 0,416 | 0,013 | |
| E12 | 0,409 | 0,438 | 0,029 | | A7 | 0,386 | 0,645 | 0,259 | 0,20 mM, 2) |
| F12 | 0,388 | 0,413 | 0,025 | | B7 | 0,345 | 0,647 | 0,302 | |
| G12 | 0,506 | 0,764 | 0,258 | | C7 | 0,379 | 0,347 | -0,032 | |
| H12 | 0,505 | 0,617 | 0,112 | | D7 | 0,45 | 0,642 | 0,192 | |
| Pb ²⁺ A1 | 0,405 | 0,676 | 0,271 | 0,20 mM | E7 | 0,517 | 0,68 | 0,163 | |
| B1 | 0,363 | 0,693 | 0,33 | | F7 | 0,399 | 0,389 | -0,01 | |
| C1 | 0,368 | 0,388 | 0,02 | | G7 | 0,407 | 0,664 | 0,257 | |
| D1 | 0,382 | 0,699 | 0,317 | | H7 | 0,391 | 0,657 | 0,266 | |
| E1 | 0,436 | 0,632 | 0,196 | | A8 | 0,407 | 0,635 | 0,228 | 0,33 mM, 2) |
| F1 | 0,357 | 0,362 | 0,005 | | B8 | 0,381 | 0,569 | 0,188 | |
| G1 | 0,39 | 0,665 | 0,275 | | C8 | 0,4 | 0,398 | -0,002 | |
| H1 | 0,397 | 0,598 | 0,201 | | D8 | 0,462 | 0,608 | 0,146 | |
| A2 | 0,526 | 0,445 | -0,081 | 0,56 mM | E8 | 0,491 | 0,456 | -0,035 | |
| B2 | 0,461 | 0,432 | -0,029 | | F8 | 0,42 | 0,404 | -0,016 | |
| C2 | 0,38 | 0,399 | 0,019 | | G8 | 0,391 | 0,483 | 0,092 | |
| D2 | 0,427 | 0,425 | -0,002 | | H8 | 0,416 | 0,549 | 0,133 | |
| E2 | 0,445 | 0,416 | -0,029 | | A9 | 0,413 | 0,883 | 0,47 | 0,0 mM |
| F2 | 0,396 | 0,396 | 0,0 | | B9 | 0,388 | 0,894 | 0,506 | |
| G2 | 0,395 | 0,395 | 0,0 | | C9 | 0,393 | 0,426 | 0,033 | |
| H2 | 0,374 | 0,396 | 0,022 | | D9 | 0,458 | 1,032 | 0,574 | |
| A3 | 0,422 | 0,697 | 0,275 | 0,33 mM, 1) | E9 | 0,424 | 0,894 | 0,47 | |
| B3 | 0,463 | 0,662 | 0,199 | | F9 | 0,399 | 0,409 | 0,010 | |
| C3 | 0,398 | 0,393 | -0,005 | | G9 | 0,398 | 0,916 | 0,518 | |
| D3 | 0,422 | 0,64 | 0,218 | | H9 | 0,454 | 0,812 | 0,358 | |

| | | | | | | | | | | |
|------------------|-----|-------|-------|--------|---------|-----|-------|-------|--------|---------|
| | A10 | 0,421 | 0,423 | 0,002 | 0,93 mM | E4 | 0,425 | 0,698 | 0,273 | |
| | B10 | 0,415 | 0,427 | 0,012 | | F4 | 0,393 | 0,484 | 0,091 | |
| | C10 | 0,402 | 0,398 | -0,004 | | G4 | 0,414 | 0,73 | 0,316 | |
| | D10 | 0,465 | 0,568 | 0,103 | | H4 | 0,466 | 0,916 | 0,45 | |
| | E10 | 0,478 | 0,503 | 0,025 | | A5 | 0,434 | 0,613 | 0,179 | 0,20 mM |
| | F10 | 0,422 | 0,399 | -0,023 | | B5 | 0,436 | 0,721 | 0,285 | |
| | G10 | 0,387 | 0,442 | 0,055 | | C5 | 0,418 | 0,508 | 0,09 | |
| | H10 | 0,436 | 0,403 | -0,033 | | D5 | 0,452 | 0,761 | 0,309 | |
| | A11 | 0,388 | 0,459 | 0,071 | 1,60 mM | E5 | 0,444 | 0,67 | 0,226 | |
| | B11 | 0,356 | 0,404 | 0,048 | | F5 | 0,432 | 0,487 | 0,055 | |
| | C11 | 0,363 | 0,409 | 0,046 | | G5 | 0,393 | 0,688 | 0,295 | |
| | D11 | 0,448 | 0,418 | -0,03 | | H5 | 0,433 | 0,771 | 0,338 | |
| | E11 | 0,479 | 0,446 | -0,033 | | A6 | 0,402 | 0,486 | 0,084 | 0,33 mM |
| | F11 | 0,366 | 0,399 | 0,033 | | B6 | 0,428 | 0,485 | 0,057 | |
| | G11 | 0,406 | 0,433 | 0,027 | | C6 | 0,566 | 0,63 | 0,064 | |
| | H11 | 0,405 | 0,457 | 0,052 | | D6 | 0,433 | 0,531 | 0,098 | |
| | A12 | 0,445 | 0,515 | 0,07 | 0,56 mM | E6 | 0,458 | 0,512 | 0,054 | |
| | B12 | 0,366 | 0,419 | 0,053 | | F6 | 0,419 | 0,496 | 0,077 | |
| | C12 | 0,352 | 0,406 | 0,054 | | G6 | 0,428 | 0,618 | 0,19 | |
| | D12 | 0,409 | 0,397 | -0,012 | | H6 | 0,501 | 0,75 | 0,249 | |
| | E12 | 0,567 | 0,432 | -0,135 | | A7 | 0,446 | 0,445 | -0,001 | 0,93 mM |
| | F12 | 0,32 | 0,382 | 0,062 | | B7 | 0,465 | 0,477 | 0,012 | |
| | G12 | 0,372 | 0,418 | 0,046 | | C7 | 0,458 | 0,545 | 0,087 | |
| | H12 | 0,412 | 0,43 | 0,018 | | D7 | 0,506 | 0,529 | 0,023 | |
| Fe ²⁺ | A1 | 0,426 | 0,445 | 0,019 | 0,56 mM | E7 | 0,501 | 0,538 | 0,037 | |
| | B1 | 0,426 | 0,45 | 0,024 | | F7 | 0,496 | 0,517 | 0,021 | |
| | C1 | 0,401 | 0,49 | 0,089 | | G7 | 0,454 | 0,525 | 0,071 | |
| | D1 | 0,474 | 0,506 | 0,032 | | H7 | 0,494 | 0,544 | 0,05 | |
| | E1 | 0,468 | 0,497 | 0,029 | | A8 | 0,472 | 0,453 | -0,019 | 1,60 mM |
| | F1 | 0,424 | 0,452 | 0,028 | | B8 | 0,481 | 0,473 | -0,008 | |
| | G1 | 0,418 | 0,457 | 0,039 | | C8 | 0,487 | 0,547 | 0,060 | |
| | H1 | 0,471 | 0,529 | 0,058 | | D8 | 0,518 | 0,52 | 0,002 | |
| | A2 | 0,466 | 0,503 | 0,037 | 0,93 mM | E8 | 0,503 | 0,522 | 0,019 | |
| | B2 | 0,489 | 0,493 | 0,004 | | F8 | 0,5 | 0,537 | 0,037 | |
| | C2 | 0,459 | 0,534 | 0,075 | | G8 | 0,48 | 0,527 | 0,047 | |
| | D2 | 0,538 | 0,558 | 0,02 | | H8 | 0,511 | 0,532 | 0,021 | |
| | E2 | 0,521 | 0,541 | 0,02 | | A9 | 0,386 | 0,49 | 0,104 | 0,33 mM |
| | F2 | 0,454 | 0,508 | 0,054 | | B9 | 0,442 | 0,64 | 0,198 | |
| | G2 | 0,465 | 0,501 | 0,036 | | C9 | 0,405 | 0,496 | 0,091 | |
| | H2 | 0,527 | 0,562 | 0,035 | | D9 | 0,46 | 0,498 | 0,038 | |
| | A3 | 0,504 | 0,498 | -0,006 | 1,60 mM | E9 | 0,426 | 0,578 | 0,152 | |
| | B3 | 0,494 | 0,513 | 0,019 | | F9 | 0,449 | 0,52 | 0,071 | |
| | C3 | 0,496 | 0,596 | 0,1 | | G9 | 0,461 | 0,713 | 0,252 | |
| | D3 | 0,53 | 0,556 | 0,026 | | H9 | 0,45 | 0,779 | 0,329 | |
| | E3 | 0,516 | 0,542 | 0,026 | | A10 | 0,43 | 0,688 | 0,258 | 0,0 mM |
| | F3 | 0,479 | 0,532 | 0,053 | | B10 | 0,4 | 0,758 | 0,358 | |
| | G3 | 0,468 | 0,496 | 0,028 | | C10 | 0,379 | 0,467 | 0,088 | |
| | H3 | 0,5 | 0,544 | 0,044 | | D10 | 0,432 | 0,712 | 0,28 | |
| | A4 | 0,391 | 0,742 | 0,351 | 0,0 mM | E10 | 0,388 | 0,694 | 0,306 | |
| | B4 | 0,413 | 0,794 | 0,381 | | F10 | 0,41 | 0,469 | 0,059 | |
| | C4 | 0,389 | 0,488 | 0,099 | | G10 | 0,446 | 0,77 | 0,324 | |
| | D4 | 0,424 | 0,754 | 0,33 | | H10 | 0,479 | 0,78 | 0,301 | |

| | | | | | | | | | | | |
|------------------|-----|-------|-------|--------|---------|--|-----|------|-------|--------|---------|
| | A11 | 0,441 | 0,622 | 0,181 | 0,20 mM | | E5 | 0,47 | 0,898 | 0,428 | |
| | B11 | 0,431 | 0,773 | 0,342 | | | F5 | 0,41 | 0,42 | 0,01 | |
| | C11 | 0,398 | 0,442 | 0,044 | | | G5 | 0,43 | 0,971 | 0,541 | |
| | D11 | 0,435 | 0,671 | 0,236 | | | H5 | 0,37 | 0,804 | 0,434 | |
| | E11 | 0,403 | 0,692 | 0,289 | | | A6 | 0,44 | 0,479 | 0,039 | 0,56 mM |
| | F11 | 0,425 | 0,465 | 0,04 | | | B6 | 0,48 | 0,472 | -0,008 | |
| | G11 | 0,397 | 0,817 | 0,42 | | | C6 | 0,41 | 0,417 | 0,007 | |
| | H11 | 0,429 | 0,689 | 0,26 | | | D6 | 0,54 | 0,525 | -0,015 | |
| | A12 | 0,465 | 0,467 | 0,002 | 0,56 mM | | E6 | 0,83 | 0,522 | -0,308 | |
| | B12 | 0,482 | 0,478 | -0,004 | | | F6 | 0,41 | 0,396 | -0,014 | |
| | C12 | 0,438 | 0,462 | 0,024 | | | G6 | 0,48 | 0,491 | 0,011 | |
| | D12 | 0,47 | 0,483 | 0,013 | | | H6 | 0,4 | 0,416 | 0,016 | |
| | E12 | 0,46 | 0,462 | 0,002 | | | A7 | 0,47 | 0,474 | 0,004 | 1,60 mM |
| | F12 | 0,439 | 0,469 | 0,03 | | | B7 | 0,48 | 0,473 | -0,007 | |
| | G12 | 0,493 | 0,522 | 0,029 | | | C7 | 0,41 | 0,421 | 0,011 | |
| | H12 | 0,473 | 0,466 | -0,007 | | | D7 | 0,48 | 0,49 | 0,01 | |
| Fe ³⁺ | A1 | 0,38 | 0,782 | 0,402 | 0,20 mM | | E7 | 0,54 | 0,514 | -0,026 | |
| | B1 | 0,42 | 0,806 | 0,386 | | | F7 | 0,45 | 0,444 | -0,006 | |
| | C1 | 0,34 | 0,389 | 0,049 | | | G7 | 0,49 | 0,512 | 0,022 | |
| | D1 | 0,39 | 0,78 | 0,39 | | | H7 | 0,44 | 0,452 | 0,012 | |
| | E1 | 0,43 | 0,753 | 0,323 | | | A8 | 0,4 | 0,71 | 0,31 | 0,20 mM |
| | F1 | 0,41 | 0,386 | -0,024 | | | B8 | 0,42 | 0,777 | 0,357 | |
| | G1 | 0,46 | 0,674 | 0,214 | | | C8 | 0,37 | 0,377 | 0,007 | |
| | H1 | 0,4 | 0,717 | 0,317 | | | D8 | 0,44 | 0,876 | 0,436 | |
| | A2 | 0,52 | 0,537 | 0,017 | 0,93 mM | | E8 | 0,49 | 0,733 | 0,243 | |
| | B2 | 0,55 | 0,52 | -0,03 | | | F8 | 0,41 | 0,415 | 0,005 | |
| | C2 | 0,57 | 0,514 | -0,056 | | | G8 | 0,47 | 0,784 | 0,314 | |
| | D2 | 0,45 | 0,481 | 0,031 | | | H8 | 0,39 | 0,765 | 0,375 | |
| | E2 | 0,53 | 0,512 | -0,018 | | | A9 | 0,42 | 0,729 | 0,309 | 0,33 mM |
| | F2 | 0,49 | 0,513 | 0,023 | | | B9 | 0,48 | 0,636 | 0,156 | |
| | G2 | 0,59 | 0,569 | -0,021 | | | C9 | 0,39 | 0,408 | 0,018 | |
| | H2 | 0,52 | 0,512 | -0,008 | | | D9 | 0,44 | 0,648 | 0,208 | |
| | A3 | 0,43 | 0,664 | 0,234 | 0,33 mM | | E9 | 0,52 | 0,516 | -0,004 | |
| | B3 | 0,43 | 0,641 | 0,211 | | | F9 | 0,42 | 0,441 | 0,021 | |
| | C3 | 0,4 | 0,408 | 0,008 | | | G9 | 0,48 | 0,669 | 0,189 | |
| | D3 | 0,49 | 0,576 | 0,086 | | | H9 | 0,44 | 0,735 | 0,295 | |
| | E3 | 0,6 | 0,582 | -0,018 | | | A10 | 0,44 | 0,441 | 0,001 | 0,56 mM |
| | F3 | 0,43 | 0,412 | -0,018 | | | B10 | 0,45 | 0,449 | -0,001 | |
| | G3 | 0,48 | 0,499 | 0,019 | | | C10 | 0,42 | 0,424 | 0,004 | |
| | H3 | 0,44 | 0,548 | 0,108 | | | D10 | 0,47 | 0,445 | -0,025 | |
| | A4 | 0,45 | 0,468 | 0,018 | 1,60 mM | | E10 | 0,52 | 0,511 | -0,009 | |
| | B4 | 0,5 | 0,507 | 0,007 | | | F10 | 0,45 | 0,483 | 0,033 | |
| | C4 | 0,43 | 0,431 | 0,001 | | | G10 | 0,49 | 0,487 | -0,003 | |
| | D4 | 0,49 | 0,517 | 0,027 | | | H10 | 0,41 | 0,423 | 0,013 | |
| | E4 | 0,59 | 0,492 | -0,098 | | | A11 | 0,49 | 0,512 | 0,022 | 0,93 mM |
| | F4 | 0,46 | 0,473 | 0,013 | | | B11 | 0,47 | 0,531 | 0,061 | |
| | G4 | 0,52 | 0,528 | 0,008 | | | C11 | 0,43 | 0,437 | 0,007 | |
| | H4 | 0,42 | 0,433 | 0,013 | | | D11 | 0,52 | 0,521 | 0,001 | |
| | A5 | 0,49 | 0,97 | 0,48 | 0,0 mM | | E11 | 0,59 | 0,519 | -0,071 | |
| | B5 | 0,42 | 0,895 | 0,475 | | | F11 | 0,45 | 0,447 | -0,003 | |
| | C5 | 0,39 | 0,404 | 0,014 | | | G11 | 0,48 | 0,47 | -0,01 | |
| | D5 | 0,42 | 0,963 | 0,543 | | | H11 | 0,42 | 0,441 | 0,021 | |

| | | | | | | | | | | |
|------------------|-------|-------|--------|---------|---------|-------|-------|--------|--------|---------|
| Cd ²⁺ | A12 | 0,46 | 0,847 | 0,387 | 0,0 mM | E6 | 0,487 | 0,495 | 0,008 | |
| | B12 | 0,39 | 0,885 | 0,495 | | F6 | 0,521 | 0,485 | -0,036 | 3) |
| | C12 | 0,39 | 0,408 | 0,018 | | G6 | 0,432 | 0,465 | 0,033 | |
| | D12 | 0,41 | 0,826 | 0,416 | | H6 | 0,406 | 0,412 | 0,006 | |
| | E12 | 0,46 | 0,874 | 0,414 | | A7 | 0,376 | 0,397 | 0,021 | 0,04 mM |
| | F12 | 0,38 | 0,38 | 0,0 | | B7 | 0,391 | 0,387 | -0,004 | |
| | G12 | 0,42 | 0,851 | 0,431 | | C7 | 0,437 | 0,471 | 0,034 | 3) |
| | H12 | 0,45 | 0,812 | 0,362 | | D7 | 0,402 | 0,41 | 0,008 | |
| | A1 | 0,364 | 0,43 | 0,066 | 0,04 mM | E7 | 0,44 | 0,457 | 0,017 | |
| | B1 | 0,382 | 0,407 | 0,025 | | F7 | 0,5 | 0,616 | 0,116 | 3) |
| | C1 | 0,385 | 0,446 | 0,061 | 3) | G7 | 0,425 | 0,46 | 0,035 | |
| | D1 | 0,456 | 0,477 | 0,021 | | H7 | 0,45 | 0,398 | -0,052 | |
| | E1 | 0,411 | 0,416 | 0,005 | | A8 | 0,448 | 0,452 | 0,004 | 0,07 mM |
| | F1 | 0,407 | 0,443 | 0,036 | 3) | B8 | 0,429 | 0,43 | 0,001 | |
| | G1 | 0,412 | 0,526 | 0,114 | | C8 | 0,437 | 0,434 | -0,003 | 3) |
| | H1 | 0,366 | 0,412 | 0,046 | | D8 | 0,407 | 0,404 | -0,003 | |
| | A2 | 0,432 | 0,444 | 0,012 | 0,07 mM | E8 | 0,45 | 0,451 | 0,001 | |
| | B2 | 0,44 | 0,468 | 0,028 | | F8 | 0,501 | 0,508 | 0,007 | 3) |
| | C2 | 0,522 | 0,573 | 0,051 | 3) | G8 | 0,416 | 0,432 | 0,016 | |
| | D2 | 0,548 | 0,521 | -0,027 | | H8 | 0,378 | 0,377 | -0,001 | |
| | E2 | 0,425 | 0,441 | 0,016 | | A9 | 0,45 | 0,614 | 0,164 | 0,03 mM |
| | F2 | 0,466 | 0,482 | 0,016 | 3) | B9 | 0,428 | 0,422 | -0,006 | |
| | G2 | 0,44 | 0,464 | 0,024 | | C9 | 0,47 | 0,648 | 0,178 | 3) |
| | H2 | 0,394 | 0,427 | 0,033 | | D9 | 0,399 | 0,405 | 0,006 | |
| | A3 | 0,41 | 0,951 | 0,541 | 0,0 mM | E9 | 0,507 | 0,471 | -0,036 | |
| | B3 | 0,393 | 0,854 | 0,461 | | F9 | 0,528 | 0,634 | 0,106 | 3) |
| | C3 | 0,442 | 0,951 | 0,509 | 3) | G9 | 0,415 | 0,425 | 0,01 | |
| | D3 | 0,449 | 0,978 | 0,529 | | H9 | 0,396 | 0,399 | 0,003 | |
| | E3 | 0,411 | 0,643 | 0,232 | | A10 | 0,367 | 0,851 | 0,484 | 0,0 mM |
| | F3 | 0,459 | 0,874 | 0,415 | 3) | B10 | 0,399 | 0,613 | 0,214 | |
| | G3 | 0,44 | 0,896 | 0,456 | | C10 | 0,442 | 0,921 | 0,479 | 3) |
| | H3 | 0,357 | 0,787 | 0,43 | | D10 | 0,395 | 0,656 | 0,261 | |
| | A4 | 0,373 | 0,488 | 0,115 | 0,03 mM | E10 | 0,453 | 0,693 | 0,24 | |
| | B4 | 0,412 | 0,425 | 0,013 | | F10 | 0,515 | 1,016 | 0,501 | 3) |
| | C4 | 0,451 | 0,587 | 0,136 | 3) | G10 | 0,409 | 0,716 | 0,307 | |
| | D4 | 0,445 | 0,486 | 0,041 | | H10 | 0,405 | 0,681 | 0,276 | |
| | E4 | 0,458 | 0,468 | 0,01 | | A11 | 0,5 | 0,484 | -0,016 | 0,12 mM |
| | F4 | 0,454 | 0,573 | 0,119 | 3) | B11 | 0,449 | 0,445 | -0,004 | |
| | G4 | 0,496 | 0,611 | 0,115 | | C11 | 0,522 | 0,571 | 0,049 | 3) |
| | H4 | 0,378 | 0,41 | 0,032 | | D11 | 0,405 | 0,394 | -0,011 | |
| | A5 | 0,437 | 0,441 | 0,004 | 0,12 mM | E11 | 0,476 | 0,472 | -0,004 | |
| | B5 | 0,409 | 0,404 | -0,005 | | F11 | 0,49 | 0,586 | 0,096 | 3) |
| | C5 | 0,642 | 0,523 | -0,119 | 3) | G11 | 0,458 | 0,43 | -0,028 | |
| | D5 | 0,449 | 0,433 | -0,016 | | H11 | 0,462 | 0,46 | -0,002 | |
| | E5 | 0,432 | 0,433 | 0,001 | | A12 | 0,44 | 0,431 | -0,009 | 0,20 mM |
| | F5 | 0,522 | 0,513 | -0,009 | 3) | B12 | 0,406 | 0,399 | -0,007 | |
| | G5 | 0,516 | 0,503 | -0,013 | | C12 | 0,42 | 0,435 | 0,015 | 3) |
| | H5 | 0,389 | 0,398 | 0,009 | | D12 | 0,405 | 0,389 | -0,016 | |
| A6 | 0,408 | 0,376 | -0,032 | 0,20 mM | E12 | 0,451 | 0,46 | 0,009 | | |
| B6 | 0,398 | 0,378 | -0,02 | | F12 | 0,455 | 0,439 | -0,016 | 3) | |
| C6 | 0,455 | 0,444 | -0,011 | 3) | G12 | 0,485 | 0,427 | -0,058 | | |
| D6 | 0,435 | 0,429 | -0,006 | | H12 | 0,413 | 0,44 | 0,027 | | |

| | | | | | | | | | |
|----|-------|-------|--------|---------|-----|-------|-------|--------|---------|
| A2 | 0,387 | 0,705 | 0,318 | 0,33 mM | E8 | 0,541 | 0,56 | 0,019 | |
| B2 | 0,431 | 0,743 | 0,312 | | F8 | 0,476 | 0,518 | 0,042 | |
| C2 | 0,407 | 0,438 | 0,031 | | G8 | 0,448 | 0,479 | 0,031 | |
| D2 | 0,424 | 0,552 | 0,128 | | H8 | 0,455 | 0,501 | 0,046 | |
| E2 | 0,481 | 0,713 | 0,232 | | A9 | 0,398 | 0,822 | 0,424 | 0,0 mM |
| F2 | 0,386 | 0,403 | 0,017 | | B9 | 0,401 | 0,744 | 0,343 | |
| G2 | 0,415 | 0,722 | 0,307 | | C9 | 0,412 | 0,501 | 0,089 | |
| H2 | 0,453 | 0,771 | 0,318 | | D9 | 0,386 | 0,92 | 0,534 | |
| A3 | 0,369 | 0,77 | 0,401 | 0,20 mM | E9 | 0,477 | 0,851 | 0,374 | |
| B3 | 0,442 | 0,798 | 0,356 | | F9 | 0,384 | 0,415 | 0,031 | |
| C3 | 0,38 | 0,408 | 0,028 | | G9 | 0,388 | 0,764 | 0,376 | |
| D3 | 0,432 | 0,721 | 0,289 | | H9 | 0,402 | 0,871 | 0,469 | |
| E3 | 0,466 | 0,756 | 0,29 | | A10 | 0,478 | 0,778 | 0,3 | 0,33 mM |
| F3 | 0,406 | 0,407 | 0,001 | | B10 | 0,451 | 0,689 | 0,238 | |
| G3 | 0,413 | 0,753 | 0,34 | | C10 | 0,379 | 0,426 | 0,047 | |
| H3 | 0,398 | 0,748 | 0,35 | | D10 | 0,462 | 0,732 | 0,27 | |
| A4 | 0,427 | 0,596 | 0,169 | 0,56 mM | E10 | 0,492 | 0,696 | 0,204 | |
| B4 | 0,466 | 0,625 | 0,159 | | F10 | 0,43 | 0,447 | 0,017 | |
| C4 | 0,412 | 0,439 | 0,027 | | G10 | 0,417 | 0,581 | 0,164 | |
| D4 | 0,447 | 0,456 | 0,009 | | H10 | 0,456 | 0,689 | 0,233 | |
| E4 | 0,493 | 0,488 | -0,005 | | A11 | 0,434 | 0,829 | 0,395 | 0,20 mM |
| F4 | 0,402 | 0,424 | 0,022 | | B11 | 0,404 | 0,735 | 0,331 | |
| G4 | 0,476 | 0,46 | -0,016 | | C11 | 0,359 | 0,425 | 0,066 | |
| H4 | 0,504 | 0,503 | -0,001 | | D11 | 0,453 | 0,787 | 0,334 | |
| A5 | 0,463 | 0,548 | 0,085 | 1,60 mM | E11 | 0,471 | 0,814 | 0,343 | |
| B5 | 0,487 | 0,55 | 0,063 | | F11 | 0,412 | 0,428 | 0,016 | |
| C5 | 0,546 | 0,54 | -0,006 | | G11 | 0,396 | 0,744 | 0,348 | |
| D5 | 0,455 | 0,547 | 0,092 | | H11 | 0,439 | 0,798 | 0,359 | |
| E5 | 0,581 | 0,58 | -0,001 | | A12 | 0,513 | 0,658 | 0,145 | 0,56 mM |
| F5 | 0,444 | 0,524 | 0,08 | | B12 | 0,426 | 0,524 | 0,098 | |
| G5 | 0,46 | 0,552 | 0,092 | | C12 | 0,406 | 0,441 | 0,035 | |
| H5 | 0,477 | 0,545 | 0,068 | | D12 | 0,481 | 0,512 | 0,031 | |
| A6 | 0,407 | 0,956 | 0,549 | 0,0 mM | E12 | 0,512 | 0,498 | -0,014 | |
| B6 | 0,424 | 0,901 | 0,477 | | F12 | 0,414 | 0,432 | 0,018 | |
| C6 | 0,365 | 0,4 | 0,035 | | G12 | 0,449 | 0,468 | 0,019 | |
| D6 | 0,41 | 0,885 | 0,475 | | H12 | 0,489 | 0,566 | 0,077 | |
| E6 | 0,459 | 0,94 | 0,481 | | A1 | 0,365 | 0,606 | 0,241 | 0,12 mM |
| F6 | 0,395 | 0,401 | 0,006 | | B1 | 0,36 | 0,421 | 0,061 | |
| G6 | 0,401 | 0,924 | 0,523 | | C1 | 0,346 | 0,396 | 0,05 | |
| H6 | 0,541 | 0,977 | 0,436 | | D1 | 0,416 | 0,518 | 0,102 | |
| A7 | 0,455 | 0,551 | 0,096 | 1,60 mM | E1 | 0,448 | 0,64 | 0,192 | |
| B7 | 0,47 | 0,571 | 0,101 | | F1 | 0,362 | 0,371 | 0,009 | |
| C7 | 0,429 | 0,535 | 0,106 | | G1 | 0,402 | 0,627 | 0,225 | |
| D7 | 0,443 | 0,521 | 0,078 | | H1 | 0,458 | 0,633 | 0,175 | |
| E7 | 0,665 | 0,584 | -0,081 | | A2 | 0,395 | 0,75 | 0,355 | 0,0 mM |
| F7 | 0,435 | 0,539 | 0,104 | | B2 | 0,462 | 0,851 | 0,389 | |
| G7 | 0,462 | 0,566 | 0,104 | | C2 | 0,385 | 0,412 | 0,027 | |
| H7 | 0,485 | 0,595 | 0,11 | | D2 | 0,445 | 0,891 | 0,446 | |
| A8 | 0,465 | 0,528 | 0,063 | 0,93 mM | E2 | 0,458 | 0,832 | 0,374 | |
| B8 | 0,453 | 0,514 | 0,061 | | F2 | 0,388 | 0,402 | 0,014 | |
| C8 | 0,417 | 0,474 | 0,057 | | G2 | 0,41 | 0,769 | 0,359 | |
| D8 | 0,427 | 0,495 | 0,068 | | H2 | 0,379 | 0,789 | 0,41 | |

| | | | | | | | | | |
|----|-------|-------|--------|---------|---------------------|-------|-------|-------|---------|
| A3 | 0,379 | 0,671 | 0,292 | 0,04 mM | E9 | 0,441 | 0,789 | 0,348 | |
| B3 | 0,459 | 0,672 | 0,213 | | F9 | 0,404 | 0,421 | 0,017 | |
| C3 | 0,378 | 0,406 | 0,028 | | G9 | 0,429 | 0,883 | 0,454 | |
| D3 | 0,426 | 0,759 | 0,333 | | H9 | 0,402 | 0,774 | 0,372 | |
| E3 | 0,453 | 0,732 | 0,279 | | A10 | 0,387 | 0,572 | 0,185 | 0,07 mM |
| F3 | 0,402 | 0,416 | 0,014 | | B10 | 0,392 | 0,59 | 0,198 | |
| G3 | 0,396 | 0,73 | 0,334 | | C10 | 0,386 | 0,417 | 0,031 | |
| H3 | 0,399 | 0,724 | 0,325 | | D10 | 0,445 | 0,744 | 0,299 | |
| A4 | 0,372 | 0,663 | 0,291 | 0,03 mM | E10 | 0,426 | 0,652 | 0,226 | |
| B4 | 0,407 | 0,795 | 0,388 | | F10 | 0,457 | 0,469 | 0,012 | |
| C4 | 0,358 | 0,404 | 0,046 | | G10 | 0,424 | 0,735 | 0,311 | |
| D4 | 0,439 | 0,81 | 0,371 | | H10 | 0,468 | 0,701 | 0,233 | |
| E4 | 0,472 | 0,854 | 0,382 | | A11 | 0,441 | 0,675 | 0,234 | 0,04 mM |
| F4 | 0,385 | 0,397 | 0,012 | | B11 | 0,405 | 0,59 | 0,185 | |
| G4 | 0,443 | 0,804 | 0,361 | | C11 | 0,361 | 0,414 | 0,053 | |
| H4 | 0,405 | 0,774 | 0,369 | | D11 | 0,472 | 0,874 | 0,402 | |
| A5 | 0,381 | 0,615 | 0,234 | 0,07 mM | E11 | 0,441 | 0,63 | 0,189 | |
| B5 | 0,432 | 0,627 | 0,195 | | F11 | 0,405 | 0,416 | 0,011 | |
| C5 | 0,377 | 0,409 | 0,032 | | G11 | 0,421 | 0,786 | 0,365 | |
| D5 | 0,447 | 0,69 | 0,243 | | H11 | 0,383 | 0,657 | 0,274 | |
| E5 | 0,434 | 0,704 | 0,27 | | A12 | 0,392 | 0,403 | 0,011 | 0,20 mM |
| F5 | 0,403 | 0,426 | 0,023 | | B12 | 0,385 | 0,411 | 0,026 | |
| G5 | 0,391 | 0,639 | 0,248 | | C12 | 0,346 | 0,39 | 0,044 | |
| H5 | 0,42 | 0,693 | 0,273 | | D12 | 0,42 | 0,447 | 0,027 | |
| A6 | 0,376 | 0,409 | 0,033 | 0,20 mM | E12 | 0,416 | 0,436 | 0,02 | |
| B6 | 0,402 | 0,429 | 0,027 | | F12 | 0,359 | 0,406 | 0,047 | |
| C6 | 0,371 | 0,411 | 0,04 | | G12 | 0,419 | 0,447 | 0,028 | |
| D6 | 0,45 | 0,466 | 0,016 | | H12 | 0,429 | 0,429 | 0,0 | |
| E6 | 0,447 | 0,449 | 0,002 | | Hg ²⁺ A1 | 0,405 | 0,731 | 0,326 | 0,04 mM |
| F6 | 0,386 | 0,41 | 0,024 | | B1 | 0,397 | 0,672 | 0,275 | |
| G6 | 0,401 | 0,429 | 0,028 | | C1 | 0,377 | 0,391 | 0,014 | |
| H6 | 0,406 | 0,424 | 0,018 | | D1 | 0,384 | 0,634 | 0,25 | |
| A7 | 0,4 | 0,551 | 0,151 | 0,12 mM | E1 | 0,45 | 0,756 | 0,306 | |
| B7 | 0,429 | 0,476 | 0,047 | | F1 | 0,36 | 0,386 | 0,026 | |
| C7 | 0,35 | 0,398 | 0,048 | | G1 | 0,37 | 0,626 | 0,256 | |
| D7 | 0,458 | 0,619 | 0,161 | | H1 | 0,357 | 0,59 | 0,233 | |
| E7 | 0,471 | 0,602 | 0,131 | | A2 | 0,492 | 0,882 | 0,39 | 0,0 mM |
| F7 | 0,438 | 0,425 | -0,013 | | B2 | 0,431 | 0,8 | 0,369 | |
| G7 | 0,425 | 0,742 | 0,317 | | C2 | 0,387 | 0,402 | 0,015 | |
| H7 | 0,408 | 0,566 | 0,158 | | D2 | 0,434 | 0,846 | 0,412 | |
| A8 | 0,463 | 0,676 | 0,213 | 0,03 mM | E2 | 0,462 | 0,846 | 0,384 | |
| B8 | 0,454 | 0,712 | 0,258 | | F2 | 0,38 | 0,41 | 0,03 | |
| C8 | 0,394 | 0,425 | 0,031 | | G2 | 0,403 | 0,832 | 0,429 | |
| D8 | 0,457 | 0,798 | 0,341 | | H2 | 0,421 | 0,793 | 0,372 | |
| E8 | 0,432 | 0,777 | 0,345 | | A3 | 0,412 | 0,546 | 0,134 | 0,12 mM |
| F8 | 0,434 | 0,441 | 0,007 | | B3 | 0,408 | 0,488 | 0,08 | |
| G8 | 0,451 | 0,902 | 0,451 | | C3 | 0,358 | 0,376 | 0,018 | |
| H8 | 0,479 | 0,797 | 0,318 | | D3 | 0,443 | 0,485 | 0,042 | |
| A9 | 0,39 | 0,685 | 0,295 | 0,0 mM | E3 | 0,448 | 0,495 | 0,047 | |
| B9 | 0,428 | 0,728 | 0,3 | | F3 | 0,375 | 0,393 | 0,018 | |
| C9 | 0,378 | 0,408 | 0,03 | | G3 | 0,419 | 0,454 | 0,035 | |
| D9 | 0,452 | 0,892 | 0,44 | | H3 | 0,389 | 0,399 | 0,01 | |

| | | | | | | | | | |
|-----|-------|-------|--------|---------|-----|-------|-------|--------|---------|
| A4 | 0,485 | 0,814 | 0,329 | 0,03 mM | E10 | 0,454 | 0,789 | 0,335 | |
| B4 | 0,389 | 0,839 | 0,45 | | F10 | 0,406 | 0,421 | 0,015 | |
| C4 | 0,372 | 0,405 | 0,033 | | G10 | 0,408 | 0,781 | 0,373 | |
| D4 | 0,419 | 0,709 | 0,29 | | H10 | 0,398 | 0,756 | 0,358 | |
| E4 | 0,465 | 0,913 | 0,448 | | A11 | 0,393 | 0,413 | 0,02 | 0,20 mM |
| F4 | 0,394 | 0,406 | 0,012 | | B11 | 0,398 | 0,411 | 0,013 | |
| G4 | 0,422 | 0,819 | 0,397 | | C11 | 0,357 | 0,385 | 0,028 | |
| H4 | 0,393 | 0,718 | 0,325 | | D11 | 0,429 | 0,425 | -0,004 | |
| A5 | 0,449 | 0,457 | 0,008 | 0,20 mM | E11 | 0,45 | 0,461 | 0,011 | |
| B5 | 0,398 | 0,42 | 0,022 | | F11 | 0,406 | 0,435 | 0,029 | |
| C5 | 0,356 | 0,384 | 0,028 | | G11 | 0,415 | 0,424 | 0,009 | |
| D5 | 0,411 | 0,417 | 0,006 | | H11 | 0,468 | 0,47 | 0,002 | |
| E5 | 0,483 | 0,48 | -0,003 | | A12 | 0,436 | 0,519 | 0,083 | 0,12 mM |
| F5 | 0,408 | 0,41 | 0,002 | | B12 | 0,417 | 0,416 | -0,001 | |
| G5 | 0,39 | 0,392 | 0,002 | | C12 | 0,368 | 0,396 | 0,028 | |
| H5 | 0,376 | 0,396 | 0,02 | | D12 | 0,422 | 0,522 | 0,1 | |
| A6 | 0,394 | 0,631 | 0,237 | 0,07 mM | E12 | 0,457 | 0,433 | -0,024 | |
| B6 | 0,393 | 0,616 | 0,223 | | F12 | 0,374 | 0,392 | 0,018 | |
| C6 | 0,342 | 0,386 | 0,044 | | G12 | 0,386 | 0,419 | 0,033 | |
| D6 | 0,452 | 0,618 | 0,166 | | H12 | 0,468 | 0,447 | -0,021 | |
| E6 | 0,469 | 0,682 | 0,213 | | A1 | 0,39 | 0,655 | 0,265 | 130 mM |
| F6 | 0,41 | 0,413 | 0,003 | | B1 | 0,42 | 0,751 | 0,331 | |
| G6 | 0,394 | 0,65 | 0,256 | | C1 | 0,39 | 0,389 | -0,001 | |
| H6 | 0,408 | 0,57 | 0,162 | | D1 | 0,39 | 0,691 | 0,301 | |
| A7 | 0,377 | 0,649 | 0,272 | 0,04 mM | E1 | 0,38 | 0,568 | 0,188 | |
| B7 | 0,369 | 0,637 | 0,268 | | F1 | 0,38 | 0,397 | 0,017 | |
| C7 | 0,343 | 0,369 | 0,026 | | G1 | 0,42 | 0,789 | 0,369 | |
| D7 | 0,462 | 0,769 | 0,307 | | H1 | 0,33 | 0,468 | 0,138 | |
| E7 | 0,445 | 0,726 | 0,281 | | A2 | 0,43 | 0,78 | 0,35 | 0,0 mM |
| F7 | 0,4 | 0,407 | 0,007 | | B2 | 0,48 | 0,928 | 0,448 | |
| G7 | 0,449 | 0,732 | 0,283 | | C2 | 0,4 | 0,424 | 0,024 | |
| H7 | 0,391 | 0,657 | 0,266 | | D2 | 0,42 | 0,777 | 0,357 | |
| A8 | 0,399 | 0,595 | 0,196 | 0,07 mM | E2 | 0,43 | 0,734 | 0,304 | |
| B8 | 0,365 | 0,63 | 0,265 | | F2 | 0,39 | 0,403 | 0,013 | |
| C8 | 0,377 | 0,379 | 0,002 | | G2 | 0,45 | 0,935 | 0,485 | |
| D8 | 0,428 | 0,584 | 0,156 | | H2 | 0,35 | 0,612 | 0,262 | |
| E8 | 0,462 | 0,657 | 0,195 | | A3 | 0,42 | 0,644 | 0,224 | 220 mM |
| F8 | 0,429 | 0,463 | 0,034 | | B3 | 0,44 | 0,722 | 0,282 | |
| G8 | 0,407 | 0,613 | 0,206 | | C3 | 0,44 | 0,498 | 0,058 | |
| H8 | 0,428 | 0,637 | 0,209 | | D3 | 0,4 | 0,597 | 0,197 | |
| A9 | 0,417 | 0,71 | 0,293 | 0,0 mM | E3 | 0,41 | 0,571 | 0,161 | |
| B9 | 0,414 | 0,815 | 0,401 | | F3 | 0,41 | 0,403 | -0,007 | |
| C9 | 0,322 | 0,376 | 0,054 | | G3 | 0,42 | 0,737 | 0,317 | |
| D9 | 0,48 | 0,864 | 0,384 | | H3 | 0,39 | 0,525 | 0,135 | |
| E9 | 0,488 | 0,898 | 0,41 | | A4 | 0,42 | 0,442 | 0,022 | 1000 mM |
| F9 | 0,43 | 0,444 | 0,014 | | B4 | 0,44 | 0,467 | 0,027 | |
| G9 | 0,399 | 0,854 | 0,455 | | C4 | 0,39 | 0,407 | 0,017 | |
| H9 | 0,402 | 0,833 | 0,431 | | D4 | 0,37 | 0,356 | -0,014 | |
| A10 | 0,397 | 0,774 | 0,377 | 0,03 mM | E4 | 0,4 | 0,383 | -0,017 | |
| B10 | 0,366 | 0,723 | 0,357 | | F4 | 0,41 | 0,451 | 0,041 | |
| C10 | 0,341 | 0,389 | 0,048 | | G4 | 0,39 | 0,412 | 0,022 | |
| D10 | 0,484 | 0,838 | 0,354 | | H4 | 0,35 | 0,37 | 0,02 | |

| | | | | | | | | | | |
|-----|------|-------|--------|--------|------------------|-----|-------|-------|--------|---------|
| A5 | 0,42 | 0,506 | 0,086 | 600 mM | | E11 | 0,48 | 0,71 | 0,23 | |
| B5 | 0,44 | 0,584 | 0,144 | | | F11 | 0,43 | 0,407 | -0,023 | |
| C5 | 0,41 | 0,492 | 0,082 | | | G11 | 0,41 | 0,597 | 0,187 | |
| D5 | 0,36 | 0,391 | 0,031 | | | H11 | 0,37 | 0,524 | 0,154 | |
| E5 | 0,43 | 0,458 | 0,028 | | | A12 | 0,45 | 0,499 | 0,049 | 1000 mM |
| F5 | 0,39 | 0,385 | -0,005 | | | B12 | 0,37 | 0,376 | 0,006 | |
| G5 | 0,4 | 0,554 | 0,154 | | | C12 | 0,37 | 0,394 | 0,024 | |
| H5 | 0,36 | 0,388 | 0,028 | | | D12 | 0,38 | 0,379 | -0,001 | |
| A6 | 0,42 | 0,619 | 0,199 | 360 mM | | E12 | 0,44 | 0,494 | 0,054 | |
| B6 | 0,41 | 0,647 | 0,237 | | | F12 | 0,41 | 0,404 | -0,006 | |
| C6 | 0,39 | 0,41 | 0,02 | | | G12 | 0,39 | 0,398 | 0,008 | |
| D6 | 0,36 | 0,432 | 0,072 | | | H12 | 0,46 | 0,426 | -0,034 | |
| E6 | 0,44 | 0,558 | 0,118 | | Mn ²⁺ | A1 | 0,36 | 0,654 | 0,294 | 130 mM |
| F6 | 0,38 | 0,381 | 0,001 | | | B1 | 0,396 | 0,717 | 0,321 | |
| G6 | 0,44 | 0,679 | 0,239 | | | C1 | 0,364 | 0,404 | 0,04 | |
| H6 | 0,36 | 0,466 | 0,106 | | | D1 | 0,347 | 0,434 | 0,087 | |
| A7 | 0,42 | 0,537 | 0,117 | 600 mM | | E1 | 0,393 | 0,667 | 0,274 | |
| B7 | 0,38 | 0,513 | 0,133 | | | F1 | 0,353 | 0,379 | 0,026 | |
| C7 | 0,37 | 0,391 | 0,021 | | | G1 | 0,414 | 0,791 | 0,377 | |
| D7 | 0,4 | 0,385 | -0,015 | | | H1 | 0,334 | 0,455 | 0,121 | |
| E7 | 0,44 | 0,5 | 0,06 | | | A2 | 0,398 | 0,432 | 0,034 | 360 mM |
| F7 | 0,41 | 0,4 | -0,01 | | | B2 | 0,415 | 0,457 | 0,042 | |
| G7 | 0,43 | 0,542 | 0,112 | | | C2 | 0,349 | 0,392 | 0,043 | |
| H7 | 0,34 | 0,357 | 0,017 | | | D2 | 0,367 | 0,38 | 0,013 | |
| A8 | 0,43 | 0,881 | 0,451 | 0,0 mM | | E2 | 0,431 | 0,474 | 0,043 | |
| B8 | 0,42 | 0,882 | 0,462 | | | F2 | 0,43 | 0,417 | -0,013 | |
| C8 | 0,39 | 0,415 | 0,025 | | | G2 | 0,445 | 0,467 | 0,022 | |
| D8 | 0,36 | 0,644 | 0,284 | | | H2 | 0,344 | 0,379 | 0,035 | |
| E8 | 0,48 | 0,911 | 0,431 | | | A3 | 0,383 | 0,414 | 0,031 | 600 mM |
| F8 | 0,43 | 0,42 | -0,01 | | | B3 | 0,39 | 0,407 | 0,017 | |
| G8 | 0,39 | 0,872 | 0,482 | | | C3 | 0,36 | 0,406 | 0,046 | |
| H8 | 0,37 | 0,665 | 0,295 | | | D3 | 0,372 | 0,374 | 0,002 | |
| A9 | 0,42 | 0,676 | 0,256 | 220 mM | | E3 | 0,458 | 0,472 | 0,014 | |
| B9 | 0,38 | 0,596 | 0,216 | | | F3 | 0,397 | 0,415 | 0,018 | |
| C9 | 0,37 | 0,38 | 0,01 | | | G3 | 0,438 | 0,439 | 0,001 | |
| D9 | 0,37 | 0,493 | 0,123 | | | H3 | 0,336 | 0,358 | 0,022 | |
| E9 | 0,5 | 0,765 | 0,265 | | | A4 | 0,501 | 0,939 | 0,438 | 0,0 mM |
| F9 | 0,4 | 0,388 | -0,012 | | | B4 | 0,4 | 0,72 | 0,32 | |
| G9 | 0,41 | 0,67 | 0,26 | | | C4 | 0,372 | 0,418 | 0,046 | |
| H9 | 0,39 | 0,553 | 0,163 | | | D4 | 0,385 | 0,697 | 0,312 | |
| A10 | 0,45 | 0,759 | 0,309 | 130 mM | | E4 | 0,526 | 1,064 | 0,538 | |
| B10 | 0,39 | 0,634 | 0,244 | | | F4 | 0,504 | 0,427 | -0,077 | |
| C10 | 0,38 | 0,406 | 0,026 | | | G4 | 0,508 | 1,047 | 0,539 | |
| D10 | 0,38 | 0,569 | 0,189 | | | H4 | 0,391 | 0,694 | 0,303 | |
| E10 | 0,5 | 0,784 | 0,284 | | | A5 | 0,423 | 0,679 | 0,256 | 220 mM |
| F10 | 0,43 | 0,421 | -0,009 | | | B5 | 0,391 | 0,423 | 0,032 | |
| G10 | 0,39 | 0,679 | 0,289 | | | C5 | 0,362 | 0,401 | 0,039 | |
| H10 | 0,42 | 0,593 | 0,173 | | | D5 | 0,381 | 0,415 | 0,034 | |
| A11 | 0,45 | 0,694 | 0,244 | 360 mM | | E5 | 0,476 | 0,72 | 0,244 | |
| B11 | 0,39 | 0,535 | 0,145 | | | F5 | 0,408 | 0,404 | -0,004 | |
| C11 | 0,37 | 0,388 | 0,018 | | | G5 | 0,422 | 0,529 | 0,107 | |
| D11 | 0,37 | 0,426 | 0,056 | | | H5 | 0,381 | 0,397 | 0,016 | |

| | | | | | | | | | | |
|-----|-------|-------|--------|---------|------------------|-------|-------|--------|---------|---------|
| A6 | 0,407 | 0,427 | 0,02 | 1000 mM | E12 | 0,455 | 0,489 | 0,034 | | |
| B6 | 0,384 | 0,362 | -0,022 | | F12 | 0,377 | 0,387 | 0,01 | | |
| C6 | 0,344 | 0,349 | 0,005 | | G12 | 0,391 | 0,419 | 0,028 | | |
| D6 | 0,392 | 0,382 | -0,01 | | H12 | 0,394 | 0,422 | 0,028 | | |
| E6 | 0,478 | 0,454 | -0,024 | | Ni ²⁺ | A1 | 0,378 | 0,758 | 0,38 | 0,20 mM |
| F6 | 0,393 | 0,381 | -0,012 | | B1 | 0,369 | 0,719 | 0,35 | | |
| G6 | 0,414 | 0,422 | 0,008 | | C1 | 0,333 | 0,35 | 0,017 | | |
| H6 | 0,382 | 0,393 | 0,011 | | D1 | 0,411 | 0,784 | 0,373 | | |
| A7 | 0,443 | 1,025 | 0,582 | 0,0 mM | E1 | 0,419 | 0,74 | 0,321 | | |
| B7 | 0,345 | 0,664 | 0,319 | | F1 | 0,364 | 0,356 | -0,008 | | |
| C7 | 0,329 | 0,418 | 0,089 | | G1 | 0,371 | 0,723 | 0,352 | | |
| D7 | 0,403 | 0,835 | 0,432 | | H1 | 0,395 | 0,727 | 0,332 | | |
| E7 | 0,519 | over | | 4) | A2 | 0,406 | 0,426 | 0,02 | 1,60 mM | |
| F7 | 0,374 | 0,415 | 0,041 | | B2 | 0,395 | 0,4 | 0,005 | | |
| G7 | 0,45 | 0,88 | 0,43 | | C2 | 0,386 | 0,397 | 0,011 | | |
| H7 | 0,418 | 0,688 | 0,27 | | D2 | 0,445 | 0,453 | 0,008 | | |
| A8 | 0,419 | 0,448 | 0,029 | 1000 mM | E2 | 0,457 | 0,461 | 0,004 | | |
| B8 | 0,407 | 0,38 | -0,027 | | F2 | 0,403 | 0,408 | 0,005 | | |
| C8 | 0,345 | 0,351 | 0,006 | | G2 | 0,39 | 0,39 | 0,0 | | |
| D8 | 0,38 | 0,353 | -0,027 | | H2 | 0,448 | 0,439 | -0,009 | | |
| E8 | 0,495 | 0,479 | -0,016 | | A3 | 0,394 | 0,406 | 0,012 | 0,93 mM | |
| F8 | 0,396 | 0,371 | -0,025 | | B3 | 0,412 | 0,412 | 0,0 | | |
| G8 | 0,416 | 0,393 | -0,023 | | C3 | 0,384 | 0,389 | 0,005 | | |
| H8 | 0,346 | 0,373 | 0,027 | | D3 | 0,438 | 0,449 | 0,011 | | |
| A9 | 0,406 | 0,681 | 0,275 | 220 mM | E3 | 0,451 | 0,447 | -0,004 | | |
| B9 | 0,327 | 0,367 | 0,04 | | F3 | 0,402 | 0,405 | 0,003 | | |
| C9 | 0,355 | 0,388 | 0,033 | | G3 | 0,399 | 0,401 | 0,002 | | |
| D9 | 0,4 | 0,543 | 0,143 | | H3 | 0,432 | 0,42 | -0,012 | | |
| E9 | 0,527 | 0,763 | 0,236 | | A4 | 0,391 | 0,702 | 0,311 | 0,33 mM | |
| F9 | 0,382 | 0,404 | 0,022 | | B4 | 0,393 | 0,642 | 0,249 | | |
| G9 | 0,411 | 0,447 | 0,036 | | C4 | 0,362 | 0,368 | 0,006 | | |
| H9 | 0,363 | 0,398 | 0,035 | | D4 | 0,448 | 0,789 | 0,341 | | |
| A10 | 0,441 | 0,782 | 0,341 | 130 mM | E4 | 0,443 | 0,739 | 0,296 | | |
| B10 | 0,338 | 0,381 | 0,043 | | F4 | 0,391 | 0,389 | -0,002 | | |
| C10 | 0,357 | 0,401 | 0,044 | | G4 | 0,395 | 0,615 | 0,22 | | |
| D10 | 0,41 | 0,657 | 0,247 | | H4 | 0,404 | 0,732 | 0,328 | | |
| E10 | 0,495 | 0,792 | 0,297 | | A5 | 0,38 | 0,413 | 0,033 | 0,56 mM | |
| F10 | 0,412 | 0,425 | 0,013 | | B5 | 0,416 | 0,418 | 0,002 | | |
| G10 | 0,413 | 0,509 | 0,096 | | C5 | 0,398 | 0,403 | 0,005 | | |
| H10 | 0,376 | 0,446 | 0,07 | | D5 | 0,445 | 0,481 | 0,036 | | |
| A11 | 0,492 | 0,512 | 0,02 | 600 mM | E5 | 0,44 | 0,452 | 0,012 | | |
| B11 | 0,336 | 0,348 | 0,012 | | F5 | 0,389 | 0,398 | 0,009 | | |
| C11 | 0,343 | 0,37 | 0,027 | | G5 | 0,427 | 0,415 | -0,012 | | |
| D11 | 0,391 | 0,386 | -0,005 | | H5 | 0,432 | 0,469 | 0,037 | | |
| E11 | 0,487 | 0,484 | -0,003 | | A6 | 0,366 | 0,769 | 0,403 | 0,0 mM | |
| F11 | 0,375 | 0,377 | 0,002 | | B6 | 0,395 | 0,85 | 0,455 | | |
| G11 | 0,408 | 0,408 | 0,0 | | C6 | 0,373 | 0,376 | 0,003 | | |
| H11 | 0,372 | 0,397 | 0,025 | | D6 | 0,446 | 0,945 | 0,499 | | |
| A12 | 0,461 | 0,516 | 0,055 | 360 mM | E6 | 0,432 | 0,801 | 0,369 | | |
| B12 | 0,35 | 0,387 | 0,037 | | F6 | 0,388 | 0,391 | 0,003 | | |
| C12 | 0,331 | 0,379 | 0,048 | | G6 | 0,373 | 0,728 | 0,355 | | |
| D12 | 0,381 | 0,438 | 0,057 | | H6 | 0,442 | 0,855 | 0,413 | | |

| | | | | | | | | | | | |
|------------------|-------|-------|--------|--------|---------|-------|-------|---------|--------|--|--------|
| Zn ²⁺ | A7 | 0,352 | 0,361 | 0,009 | 0,93 mM | E1 | 0,414 | 0,461 | 0,047 | | |
| | B7 | 0,408 | 0,458 | 0,05 | | F1 | 0,358 | 0,397 | 0,039 | | |
| | C7 | 0,383 | 0,393 | 0,01 | | G1 | 0,354 | 0,44 | 0,086 | | |
| | D7 | 0,441 | 0,464 | 0,023 | | H1 | 0,377 | 0,438 | 0,061 | | |
| | E7 | 0,441 | 0,446 | 0,005 | | A2 | 0,406 | 0,761 | 0,355 | | 0,0 mM |
| | F7 | 0,428 | 0,421 | -0,007 | | B2 | 0,42 | 0,765 | 0,345 | | |
| | G7 | 0,422 | 0,425 | 0,003 | | C2 | 0,4 | 0,488 | 0,088 | | |
| | H7 | 0,439 | 0,442 | 0,003 | D2 | 0,454 | 0,898 | 0,444 | 2,6 mM | | |
| | A8 | 0,36 | 0,771 | 0,411 | E2 | 0,429 | 0,83 | 0,401 | | | |
| | B8 | 0,411 | 0,891 | 0,48 | F2 | 0,387 | 0,418 | 0,031 | | | |
| | C8 | 0,375 | 0,385 | 0,01 | G2 | 0,393 | 0,735 | 0,342 | | | |
| | D8 | 0,447 | 0,885 | 0,438 | H2 | 0,434 | 0,894 | 0,46 | | | |
| | E8 | 0,459 | 0,784 | 0,325 | A3 | 0,37 | 0,454 | 0,084 | | | |
| | F8 | 0,396 | 0,385 | -0,011 | B3 | 0,404 | 0,477 | 0,073 | | | |
| | G8 | 0,388 | 0,92 | 0,532 | C3 | 0,357 | 0,497 | 0,14 | 1,6 mM | | |
| | H8 | 0,413 | 0,807 | 0,394 | D3 | 0,468 | 0,765 | 0,297 | | | |
| | A9 | 0,389 | 0,711 | 0,322 | E3 | 0,431 | 0,707 | 0,276 | | | |
| | B9 | 0,446 | 0,758 | 0,312 | F3 | 0,373 | 0,475 | 0,102 | 4,3 mM | | |
| | C9 | 0,368 | 0,374 | 0,006 | G3 | 0,382 | 0,593 | 0,211 | | | |
| | D9 | 0,416 | 0,799 | 0,383 | H3 | 0,376 | 0,684 | 0,308 | | | |
| | E9 | 0,424 | 0,705 | 0,281 | A4 | 0,373 | 0,462 | 0,089 | | | |
| | F9 | 0,382 | 0,385 | 0,003 | B4 | 0,42 | 0,629 | 0,209 | | | |
| | G9 | 0,444 | 0,768 | 0,324 | C4 | 0,365 | 0,482 | 0,117 | | | |
| | H9 | 0,417 | 0,735 | 0,318 | D4 | 0,463 | 0,803 | 0,34 | | | |
| A10 | 0,371 | 0,584 | 0,213 | E4 | 0,427 | 0,672 | 0,245 | 12,0 mM | | | |
| B10 | 0,42 | 0,678 | 0,258 | F4 | 0,387 | 0,473 | 0,086 | | | | |
| C10 | 0,373 | 0,369 | -0,004 | G4 | 0,382 | 0,637 | 0,255 | | | | |
| D10 | 0,512 | 0,821 | 0,309 | H4 | 0,394 | 0,741 | 0,347 | 7,2 mM | | | |
| E10 | 0,441 | 0,721 | 0,28 | A5 | 0,363 | 0,447 | 0,084 | | | | |
| F10 | 0,407 | 0,405 | -0,002 | B5 | 0,412 | 0,475 | 0,063 | | | | |
| G10 | 0,433 | 0,682 | 0,249 | C5 | 0,37 | 0,486 | 0,116 | | | | |
| H10 | 0,431 | 0,775 | 0,344 | D5 | 0,444 | 0,604 | 0,16 | | | | |
| A11 | 0,386 | 0,409 | 0,023 | E5 | 0,416 | 0,488 | 0,072 | | | | |
| B11 | 0,429 | 0,454 | 0,025 | F5 | 0,382 | 0,494 | 0,112 | | | | |
| C11 | 0,365 | 0,383 | 0,018 | G5 | 0,391 | 0,491 | 0,1 | 0,0 mM | | | |
| D11 | 0,425 | 0,435 | 0,01 | H5 | 0,406 | 0,538 | 0,132 | | | | |
| E11 | 0,415 | 0,428 | 0,013 | A6 | 0,38 | 0,444 | 0,064 | | | | |
| F11 | 0,4 | 0,398 | -0,002 | B6 | 0,393 | 0,476 | 0,083 | 7,2 mM | | | |
| G11 | 0,458 | 0,454 | -0,004 | C6 | 0,362 | 0,469 | 0,107 | | | | |
| H11 | 0,429 | 0,443 | 0,014 | D6 | 0,463 | 0,555 | 0,092 | | | | |
| A12 | 0,414 | 0,416 | 0,002 | E6 | 0,401 | 0,453 | 0,052 | | | | |
| B12 | 0,429 | 0,44 | 0,011 | F6 | 0,372 | 0,487 | 0,115 | | | | |
| C12 | 0,369 | 0,386 | 0,017 | G6 | 0,403 | 0,482 | 0,079 | | | | |
| D12 | 0,4 | 0,409 | 0,009 | H6 | 0,416 | 0,54 | 0,124 | | | | |
| E12 | 0,418 | 0,431 | 0,013 | A7 | 0,342 | 0,426 | 0,084 | 0,0 mM | | | |
| F12 | 0,381 | 0,382 | 0,001 | B7 | 0,387 | 0,466 | 0,079 | | | | |
| G12 | 0,427 | 0,446 | 0,019 | C7 | 0,357 | 0,476 | 0,119 | | | | |
| H12 | 0,449 | 0,466 | 0,017 | D7 | 0,461 | 0,584 | 0,123 | 7,2 mM | | | |
| A1 | 0,388 | 0,453 | 0,065 | E7 | 0,424 | 0,468 | 0,044 | | | | |
| B1 | 0,361 | 0,422 | 0,061 | F7 | 0,372 | 0,47 | 0,098 | | | | |
| C1 | 0,341 | 0,454 | 0,113 | G7 | 0,406 | 0,502 | 0,096 | | | | |
| D1 | 0,43 | 0,506 | 0,076 | H7 | 0,399 | 0,592 | 0,193 | | | | |

| | | | | | | | | | | |
|------------------|-----|-------|-------|-------|---------|----|-------|-------|--------|---------|
| | A8 | 0,339 | 0,459 | 0,12 | 1,6 mM | E2 | 0,472 | 0,784 | 0,312 | |
| | B8 | 0,413 | 0,687 | 0,274 | | F2 | 0,384 | 0,405 | 0,021 | |
| | C8 | 0,36 | 0,473 | 0,113 | | G2 | 0,401 | 0,77 | 0,369 | |
| | D8 | 0,451 | 0,802 | 0,351 | | H2 | 0,437 | 0,753 | 0,316 | |
| | E8 | 0,417 | 0,614 | 0,197 | | A3 | 0,409 | 0,865 | 0,456 | 0,0 mM |
| | F8 | 0,41 | 0,461 | 0,051 | | B3 | 0,407 | 0,858 | 0,451 | |
| | G8 | 0,415 | 0,656 | 0,241 | | C3 | 0,376 | 0,389 | 0,013 | |
| | H8 | 0,427 | 0,797 | 0,37 | | D3 | 0,452 | 0,857 | 0,405 | |
| | A9 | 0,357 | 0,659 | 0,302 | 0,0 mM | E3 | 0,503 | 0,885 | 0,382 | |
| | B9 | 0,421 | 0,885 | 0,464 | | F3 | 0,409 | 0,44 | 0,031 | |
| | C9 | 0,362 | 0,452 | 0,09 | | G3 | 0,411 | 0,881 | 0,47 | |
| | D9 | 0,452 | 0,927 | 0,475 | | H3 | 0,446 | 0,871 | 0,425 | |
| | E9 | 0,414 | 0,693 | 0,279 | | A4 | 0,387 | 0,391 | 0,004 | 0,93 mM |
| | F9 | 0,384 | 0,443 | 0,059 | | B4 | 0,423 | 0,395 | -0,028 | |
| | G9 | 0,412 | 0,797 | 0,385 | | C4 | 0,399 | 0,376 | -0,023 | |
| | H9 | 0,402 | 0,908 | 0,506 | | D4 | 0,445 | 0,407 | -0,038 | |
| | A10 | 0,371 | 0,438 | 0,067 | 4,3 mM | E4 | 0,444 | 0,425 | -0,019 | |
| | B10 | 0,437 | 0,529 | 0,092 | | F4 | 0,45 | 0,415 | -0,035 | |
| | C10 | 0,384 | 0,461 | 0,077 | | G4 | 0,392 | 0,379 | -0,013 | |
| | D10 | 0,44 | 0,736 | 0,296 | | H4 | 0,42 | 0,465 | 0,045 | |
| | E10 | 0,422 | 0,467 | 0,045 | | A5 | 0,428 | 0,702 | 0,274 | 0,56 mM |
| | F10 | 0,398 | 0,456 | 0,058 | | B5 | 0,393 | 0,46 | 0,067 | |
| | G10 | 0,421 | 0,56 | 0,139 | | C5 | 0,371 | 0,388 | 0,017 | |
| | H10 | 0,426 | 0,772 | 0,346 | | D5 | 0,433 | 0,647 | 0,214 | |
| | A11 | 0,378 | 0,445 | 0,067 | 2,6 mM | E5 | 0,518 | 0,71 | 0,192 | |
| | B11 | 0,404 | 0,51 | 0,106 | | F5 | 0,433 | 0,394 | -0,039 | |
| | C11 | 0,368 | 0,468 | 0,1 | | G5 | 0,41 | 0,605 | 0,195 | |
| | D11 | 0,43 | 0,777 | 0,347 | | H5 | 0,435 | 0,627 | 0,192 | |
| | E11 | 0,414 | 0,525 | 0,111 | | A6 | 0,404 | 0,408 | 0,004 | 1,60 mM |
| | F11 | 0,411 | 0,446 | 0,035 | | B6 | 0,388 | 0,373 | -0,015 | |
| | G11 | 0,395 | 0,678 | 0,283 | | C6 | 0,353 | 0,357 | 0,004 | |
| | H11 | 0,436 | 0,844 | 0,408 | | D6 | 0,438 | 0,425 | -0,013 | |
| | A12 | 0,434 | 0,452 | 0,018 | 12,0 mM | E6 | 0,44 | 0,438 | -0,002 | |
| | B12 | 0,41 | 0,466 | 0,056 | | F6 | 0,381 | 0,392 | 0,011 | |
| | C12 | 0,376 | 0,438 | 0,062 | | G6 | 0,401 | 0,387 | -0,014 | |
| | D12 | 0,419 | 0,487 | 0,068 | | H6 | 0,353 | 0,364 | 0,011 | |
| | E12 | 0,393 | 0,439 | 0,046 | | A7 | 0,426 | 0,936 | 0,51 | 0,20 mM |
| | F12 | 0,384 | 0,433 | 0,049 | | B7 | 0,394 | 0,74 | 0,346 | |
| | G12 | 0,384 | 0,457 | 0,073 | | C7 | 0,359 | 0,363 | 0,004 | |
| | H12 | 0,47 | 0,537 | 0,067 | | D7 | 0,414 | 0,805 | 0,391 | |
| Sn ²⁺ | A1 | 0,379 | 0,759 | 0,38 | 0,33 mM | E7 | 0,444 | 0,841 | 0,397 | |
| | B1 | 0,397 | 0,687 | 0,29 | | F7 | 0,411 | 0,415 | 0,004 | |
| | C1 | 0,345 | 0,396 | 0,051 | | G7 | 0,425 | 0,854 | 0,429 | |
| | D1 | 0,382 | 0,644 | 0,262 | | H7 | 0,388 | 0,82 | 0,432 | |
| | E1 | 0,434 | 0,79 | 0,356 | | A8 | 0,407 | 0,807 | 0,4 | 0,33 mM |
| | F1 | 0,377 | 0,402 | 0,025 | | B8 | 0,408 | 0,676 | 0,268 | |
| | G1 | 0,37 | 0,61 | 0,24 | | C8 | 0,352 | 0,381 | 0,029 | |
| | H1 | 0,454 | 0,798 | 0,344 | | D8 | 0,527 | 0,887 | 0,36 | |
| | A2 | 0,406 | 0,808 | 0,402 | 0,20 mM | E8 | 0,468 | 0,83 | 0,362 | |
| | B2 | 0,396 | 0,751 | 0,355 | | F8 | 0,423 | 0,393 | -0,03 | |
| | C2 | 0,363 | 0,384 | 0,021 | | G8 | 0,405 | 0,861 | 0,456 | |
| | D2 | 0,412 | 0,709 | 0,297 | | H8 | 0,391 | 0,746 | 0,355 | |

| | | | | | | | | | | |
|------------------------------|-------|-------|--------|---------|---------|-------|-------|--------|--------|---------|
| | A9 | 0,421 | 0,424 | 0,003 | 0,93 mM | E3 | 0,532 | 0,527 | -0,005 | |
| | B9 | 0,423 | 0,39 | -0,033 | | F3 | 0,421 | 0,406 | -0,015 | |
| | C9 | 0,401 | 0,378 | -0,023 | | G3 | 0,437 | 0,408 | -0,029 | |
| | D9 | 0,468 | 0,435 | -0,033 | | H3 | 0,437 | 0,426 | -0,011 | |
| | E9 | 0,419 | 0,43 | 0,011 | | A4 | 0,411 | 0,458 | 0,047 | 360 mM |
| | F9 | 0,467 | 0,429 | -0,038 | | B4 | 0,37 | 0,413 | 0,043 | |
| | G9 | 0,47 | 0,413 | -0,057 | | C4 | 0,397 | 0,446 | 0,049 | |
| | H9 | 0,394 | 0,391 | -0,003 | | D4 | 0,493 | 0,488 | -0,005 | |
| | A10 | 0,427 | 0,56 | 0,133 | 0,56 mM | E4 | 0,501 | 0,53 | 0,029 | |
| | B10 | 0,436 | 0,42 | -0,016 | | F4 | 0,411 | 0,442 | 0,031 | |
| | C10 | 0,366 | 0,364 | -0,002 | | G4 | 0,409 | 0,451 | 0,042 | |
| | D10 | 0,437 | 0,597 | 0,16 | | H4 | 0,408 | 0,44 | 0,032 | |
| | E10 | 0,464 | 0,607 | 0,143 | | A5 | 0,434 | 0,456 | 0,022 | 600 mM |
| | F10 | 0,485 | 0,434 | -0,051 | | B5 | 0,361 | 0,357 | -0,004 | |
| | G10 | 0,47 | 0,742 | 0,272 | | C5 | 0,372 | 0,408 | 0,036 | |
| | H10 | 0,444 | 0,492 | 0,048 | | D5 | 0,64 | 0,602 | -0,038 | |
| | A11 | 0,456 | 0,919 | 0,463 | 0,0 mM | E5 | 0,518 | 0,514 | -0,004 | |
| | B11 | 0,401 | 0,899 | 0,498 | | F5 | 0,425 | 0,427 | 0,002 | |
| | C11 | 0,353 | 0,377 | 0,024 | | G5 | 0,423 | 0,418 | -0,005 | |
| | D11 | 0,442 | 0,916 | 0,474 | | H5 | 0,405 | 0,422 | 0,017 | |
| | E11 | 0,43 | 0,851 | 0,421 | | A6 | 0,433 | 0,684 | 0,251 | 220 mM |
| | F11 | 0,442 | 0,431 | -0,011 | | B6 | 0,475 | 0,447 | -0,028 | |
| | G11 | 0,424 | 0,933 | 0,509 | | C6 | 0,427 | 0,508 | 0,081 | |
| | H11 | 0,454 | 0,916 | 0,462 | | D6 | 0,482 | 0,72 | 0,238 | |
| | A12 | 0,422 | 0,425 | 0,003 | 1,60 mM | E6 | 0,534 | 0,789 | 0,255 | |
| | B12 | 0,368 | 0,37 | 0,002 | | F6 | 0,422 | 0,445 | 0,023 | |
| | C12 | 0,341 | 0,369 | 0,028 | | G6 | 0,397 | 0,505 | 0,108 | |
| | D12 | 0,407 | 0,411 | 0,004 | | H6 | 0,482 | 0,632 | 0,15 | |
| | E12 | 0,391 | 0,401 | 0,01 | | A7 | 0,417 | 0,408 | -0,009 | 1000 mM |
| | F12 | 0,359 | 0,361 | 0,002 | | B7 | 0,396 | 0,359 | -0,037 | |
| | G12 | 0,405 | 0,424 | 0,019 | | C7 | 0,367 | 0,361 | -0,006 | |
| | H12 | 0,478 | 0,474 | -0,004 | | D7 | 0,464 | 0,428 | -0,036 | |
| NO ₃ ⁻ | A1 | 0,444 | 0,859 | 0,415 | 0,0 mM | E7 | 0,513 | 0,481 | -0,032 | |
| | B1 | 0,363 | 0,688 | 0,325 | | F7 | 0,431 | 0,429 | -0,002 | |
| | C1 | 0,367 | 0,403 | 0,036 | | G7 | 0,415 | 0,373 | -0,042 | |
| | D1 | 0,406 | 0,759 | 0,353 | | H7 | 0,432 | 0,411 | -0,021 | |
| | E1 | 0,487 | 0,91 | 0,423 | | A8 | 0,412 | 0,878 | 0,466 | 0,0 mM |
| | F1 | 0,382 | 0,383 | 0,001 | | B8 | 0,391 | 0,728 | 0,337 | |
| | G1 | 0,401 | 0,889 | 0,488 | | C8 | 0,389 | 0,444 | 0,055 | |
| | H1 | 0,347 | 0,645 | 0,298 | | D8 | 0,475 | 0,98 | 0,505 | |
| | A2 | 0,447 | 0,766 | 0,319 | 130 mM | E8 | 0,537 | 1,059 | 0,522 | |
| | B2 | 0,393 | 0,64 | 0,247 | | F8 | 0,412 | 0,446 | 0,034 | |
| | C2 | 0,376 | 0,436 | 0,06 | | G8 | 0,397 | 0,777 | 0,38 | |
| | D2 | 0,472 | 0,666 | 0,194 | | H8 | 0,454 | 0,981 | 0,527 | |
| E2 | 0,555 | 0,887 | 0,332 | | A9 | 0,39 | 0,414 | 0,024 | 600 mM | |
| F2 | 0,479 | 0,501 | 0,022 | | B9 | 0,378 | 0,363 | -0,015 | | |
| G2 | 0,406 | 0,833 | 0,427 | | C9 | 0,41 | 0,407 | -0,003 | | |
| H2 | 0,377 | 0,514 | 0,137 | | D9 | 0,479 | 0,464 | -0,015 | | |
| A3 | 0,442 | 0,437 | -0,005 | 1000 mM | E9 | 0,516 | 0,482 | -0,034 | | |
| B3 | 0,395 | 0,379 | -0,016 | | F9 | 0,414 | 0,408 | -0,006 | | |
| C3 | 0,395 | 0,384 | -0,011 | | G9 | 0,375 | 0,376 | 0,001 | | |
| D3 | 0,455 | 0,436 | -0,019 | | H9 | 0,447 | 0,461 | 0,014 | | |

| | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|---------|
| | A10 | 0,395 | 0,427 | 0,032 | 360 mM | E4 | 0,538 | 0,506 | -0,032 | |
| | B10 | 0,463 | 0,427 | -0,036 | | F4 | 0,45 | 0,466 | 0,016 | |
| | C10 | 0,4 | 0,433 | 0,033 | | G4 | 0,514 | 0,568 | 0,054 | |
| | D10 | 0,468 | 0,486 | 0,018 | | H4 | 0,454 | 0,439 | -0,015 | |
| | E10 | 0,488 | 0,497 | 0,009 | | A5 | 0,392 | 0,388 | -0,004 | 1000 mM |
| | F10 | 0,427 | 0,436 | 0,009 | | B5 | 0,424 | 0,484 | 0,06 | |
| | G10 | 0,412 | 0,409 | -0,003 | | C5 | 0,374 | 0,387 | 0,013 | |
| | H10 | 0,571 | 0,549 | -0,023 | | D5 | 0,394 | 0,374 | -0,02 | |
| | A11 | 0,38 | 0,609 | 0,229 | 130 mM | E5 | 0,504 | 0,467 | -0,037 | |
| | B11 | 0,388 | 0,62 | 0,232 | | F5 | 0,419 | 0,445 | 0,026 | |
| | C11 | 0,365 | 0,447 | 0,082 | | G5 | 0,486 | 0,484 | -0,002 | |
| | D11 | 0,469 | 0,782 | 0,313 | | H5 | 0,4 | 0,435 | 0,035 | |
| | E11 | 0,463 | 0,762 | 0,299 | | A6 | 0,357 | 0,436 | 0,079 | 220 mM |
| | F11 | 0,388 | 0,419 | 0,031 | | B6 | 0,442 | 0,507 | 0,065 | |
| | G11 | 0,359 | 0,573 | 0,214 | | C6 | 0,358 | 0,448 | 0,09 | |
| | H11 | 0,464 | 0,751 | 0,287 | | D6 | 0,415 | 0,453 | 0,038 | |
| | A12 | 0,423 | 0,496 | 0,073 | 220 mM | E6 | 0,499 | 0,527 | 0,028 | |
| | B12 | 0,415 | 0,454 | 0,039 | | F6 | 0,485 | 0,479 | -0,006 | |
| | C12 | 0,398 | 0,417 | 0,019 | | G6 | 0,467 | 0,573 | 0,106 | |
| | D12 | 0,636 | 0,733 | 0,097 | | H6 | 0,418 | 0,446 | 0,028 | |
| | E12 | 0,482 | 0,673 | 0,191 | | A7 | 0,458 | 0,467 | 0,009 | 600 mM |
| | F12 | 0,384 | 0,521 | 0,137 | | B7 | 0,426 | 0,424 | -0,002 | |
| | G12 | 0,41 | 0,44 | 0,03 | | C7 | 0,377 | 0,397 | 0,02 | |
| | H12 | 0,474 | 0,724 | 0,25 | | D7 | 0,386 | 0,372 | -0,014 | |
| SO ₄ ²⁻ | A1 | 0,364 | 0,42 | 0,056 | 360 mM | E7 | 0,504 | 0,486 | -0,018 | |
| | B1 | 0,419 | 0,454 | 0,035 | | F7 | 0,467 | 0,464 | -0,003 | |
| | C1 | 0,364 | 0,487 | 0,123 | | G7 | 0,494 | 0,499 | 0,005 | |
| | D1 | 0,384 | 0,391 | 0,007 | | H7 | 0,383 | 0,408 | 0,025 | |
| | E1 | 0,421 | 0,42 | -0,001 | | A8 | 0,395 | 0,436 | 0,041 | 360 mM |
| | F1 | 0,381 | 0,406 | 0,025 | | B8 | 0,432 | 0,44 | 0,008 | |
| | G1 | 0,434 | 0,48 | 0,046 | | C8 | 0,375 | 0,415 | 0,04 | |
| | H1 | 0,375 | 0,43 | 0,055 | | D8 | 0,381 | 0,377 | -0,004 | |
| | A2 | 0,409 | 0,484 | 0,075 | 130 mM | E8 | 0,501 | 0,504 | 0,003 | |
| | B2 | 0,436 | 0,631 | 0,195 | | F8 | 0,429 | 0,509 | 0,08 | |
| | C2 | 0,489 | 0,459 | -0,03 | | G8 | 0,478 | 0,498 | 0,02 | |
| | D2 | 0,391 | 0,461 | 0,07 | | H8 | 0,435 | 0,444 | 0,009 | |
| | E2 | 0,466 | 0,56 | 0,094 | | A9 | 0,362 | 0,553 | 0,191 | 130 mM |
| | F2 | 0,409 | 0,448 | 0,039 | | B9 | 0,421 | 0,534 | 0,113 | |
| | G2 | 0,474 | 0,764 | 0,29 | | C9 | 0,366 | 0,423 | 0,057 | |
| | H2 | 0,475 | 0,61 | 0,135 | | D9 | 0,395 | 0,432 | 0,037 | |
| | A3 | 0,378 | 0,85 | 0,472 | 0,0 mM | E9 | 0,498 | 0,742 | 0,244 | |
| | B3 | 0,475 | 0,958 | 0,483 | | F9 | 0,396 | 0,436 | 0,04 | |
| | C3 | 0,374 | 0,444 | 0,07 | | G9 | 0,474 | 0,8 | 0,326 | |
| | D3 | 0,398 | 0,802 | 0,404 | | H9 | 0,45 | 0,534 | 0,084 | |
| | E3 | 0,47 | 0,932 | 0,462 | | A10 | 0,421 | 0,463 | 0,042 | 220 mM |
| | F3 | 0,414 | 0,45 | 0,036 | | B10 | 0,424 | 0,447 | 0,023 | |
| | G3 | 0,488 | 1,052 | 0,564 | | C10 | 0,54 | 0,454 | -0,086 | |
| | H3 | 0,383 | 0,845 | 0,462 | | D10 | 0,4 | 0,4 | 0,0 | |
| A4 | 0,391 | 0,434 | 0,043 | 600 mM | E10 | 0,492 | 0,526 | 0,034 | | |
| B4 | 0,419 | 0,423 | 0,004 | | F10 | 0,457 | 0,456 | -0,001 | | |
| C4 | 0,34 | 0,413 | 0,073 | | G10 | 0,488 | 0,569 | 0,081 | | |
| D4 | 0,451 | 0,431 | -0,02 | | H10 | 0,426 | 0,401 | -0,025 | | |

| | | | | | | | | | | |
|-----------------|-------|-------|--------|--------|---------|-------|-------|--------|--------|---------|
| Cl ⁻ | A11 | 0,464 | 0,97 | 0,506 | 0,0 mM | E5 | 0,487 | 0,489 | 0,002 | 1000 mM |
| | B11 | 0,403 | 0,86 | 0,457 | | F5 | 0,404 | 0,388 | -0,016 | |
| | C11 | 0,37 | 0,443 | 0,073 | | G5 | 0,405 | 0,399 | -0,006 | |
| | D11 | 0,396 | 0,919 | 0,523 | | H5 | 0,46 | 0,464 | 0,004 | |
| | E11 | 0,486 | 1,015 | 0,529 | | A6 | 0,446 | 0,433 | -0,013 | |
| | F11 | 0,406 | 0,434 | 0,028 | | B6 | 0,424 | 0,393 | -0,031 | |
| | G11 | 0,453 | 1,033 | 0,58 | | C6 | 0,389 | 0,389 | 0,0 | |
| | H11 | 0,403 | 0,717 | 0,314 | | D6 | 0,497 | 0,48 | -0,017 | |
| | A12 | 0,482 | 0,468 | -0,014 | 1000 mM | E6 | 0,488 | 0,483 | -0,005 | |
| | B12 | 0,381 | 0,382 | 0,001 | | F6 | 0,391 | 0,382 | -0,009 | |
| | C12 | 0,382 | 0,365 | -0,017 | | G6 | 0,407 | 0,39 | -0,017 | |
| | D12 | 0,404 | 0,4 | -0,004 | | H6 | 0,48 | 0,47 | -0,01 | |
| | E12 | 0,551 | 0,474 | -0,077 | | A7 | 0,407 | 0,742 | 0,335 | 220 mM |
| | F12 | 0,355 | 0,431 | 0,076 | | B7 | 0,364 | 0,649 | 0,285 | |
| | G12 | 0,425 | 0,459 | 0,034 | | C7 | 0,363 | 0,43 | 0,067 | |
| | H12 | 0,421 | 0,428 | 0,007 | | D7 | 0,509 | 0,854 | 0,345 | |
| | A1 | 0,461 | 0,804 | 0,343 | 220 mM | E7 | 0,47 | 0,765 | 0,295 | 360 mM |
| | B1 | 0,359 | 0,63 | 0,271 | | F7 | 0,445 | 0,413 | -0,032 | |
| | C1 | 0,362 | 0,392 | 0,03 | | G7 | 0,413 | 0,684 | 0,271 | |
| | D1 | 0,429 | 0,751 | 0,322 | | H7 | 0,505 | 0,791 | 0,286 | |
| | E1 | 0,509 | 0,832 | 0,323 | | A8 | 0,389 | 0,446 | 0,057 | |
| | F1 | 0,377 | 0,396 | 0,019 | | B8 | 0,37 | 0,371 | 0,001 | |
| | G1 | 0,466 | 0,614 | 0,148 | | C8 | 0,393 | 0,399 | 0,006 | |
| | H1 | 0,432 | 0,68 | 0,248 | | D8 | 0,469 | 0,646 | 0,177 | |
| | A2 | 0,472 | 0,615 | 0,143 | 360 mM | E8 | 0,529 | 0,627 | 0,098 | 130 mM |
| | B2 | 0,399 | 0,429 | 0,03 | | F8 | 0,433 | 0,416 | -0,017 | |
| | C2 | 0,405 | 0,406 | 0,001 | | G8 | 0,392 | 0,423 | 0,031 | |
| | D2 | 0,449 | 0,521 | 0,072 | | H8 | 0,445 | 0,662 | 0,217 | |
| | E2 | 0,511 | 0,754 | 0,243 | | A9 | 0,39 | 0,682 | 0,292 | |
| | F2 | 0,426 | 0,409 | -0,017 | | B9 | 0,411 | 0,725 | 0,314 | |
| | G2 | 0,381 | 0,421 | 0,04 | | C9 | 0,405 | 0,412 | 0,007 | 0,0 mM |
| | H2 | 0,459 | 0,508 | 0,049 | | D9 | 0,507 | 0,886 | 0,379 | |
| A3 | 0,466 | 0,937 | 0,471 | 0,0 mM | E9 | 0,468 | 0,736 | 0,268 | | |
| B3 | 0,4 | 0,723 | 0,323 | | F9 | 0,425 | 0,42 | -0,005 | | |
| C3 | 0,383 | 0,421 | 0,038 | | G9 | 0,423 | 0,656 | 0,233 | | |
| D3 | 0,492 | 0,932 | 0,44 | | H9 | 0,465 | 0,798 | 0,333 | | |
| E3 | 0,487 | 0,942 | 0,455 | | A10 | 0,359 | 0,75 | 0,391 | | |
| F3 | 0,404 | 0,395 | -0,009 | | B10 | 0,387 | 0,827 | 0,44 | | |
| G3 | 0,377 | 0,764 | 0,387 | | C10 | 0,388 | 0,42 | 0,032 | | |
| H3 | 0,35 | 0,781 | 0,431 | | D10 | 0,495 | 1,069 | 0,574 | | |
| A4 | 0,436 | 0,81 | 0,374 | 130 mM | E10 | 0,455 | 0,968 | 0,513 | 600 mM | |
| B4 | 0,374 | 0,652 | 0,278 | | F10 | 0,407 | 0,414 | 0,007 | | |
| C4 | 0,385 | 0,412 | 0,027 | | G10 | 0,407 | 0,864 | 0,457 | | |
| D4 | 0,465 | 0,909 | 0,444 | | H10 | 0,491 | 0,915 | 0,424 | | |
| E4 | 0,47 | 0,816 | 0,346 | | A11 | 0,355 | 0,379 | 0,024 | | |
| F4 | 0,392 | 0,389 | -0,003 | | B11 | 0,378 | 0,381 | 0,003 | | |
| G4 | 0,375 | 0,655 | 0,28 | | C11 | 0,405 | 0,485 | 0,08 | | |
| H4 | 0,395 | 0,694 | 0,299 | | D11 | 0,398 | 0,402 | 0,004 | | |
| A5 | 0,42 | 0,431 | 0,011 | 600 mM | E11 | 0,434 | 0,439 | 0,005 | | |
| B5 | 0,365 | 0,365 | 0,0 | | F11 | 0,413 | 0,403 | -0,01 | | |
| C5 | 0,389 | 0,409 | 0,02 | | G11 | 0,411 | 0,404 | -0,007 | | |
| D5 | 0,474 | 0,48 | 0,006 | | H11 | 0,531 | 0,538 | 0,007 | | |

| | | | | |
|-----|-------|-------|--------|---------|
| A12 | 0,413 | 0,433 | 0,02 | 1000 mM |
| B12 | 0,425 | 0,412 | -0,013 | |
| C12 | 0,401 | 0,402 | 0,001 | |
| D12 | 0,403 | 0,391 | -0,012 | |
| E12 | 0,493 | 0,418 | -0,075 | |
| F12 | 0,375 | 0,387 | 0,012 | |
| G12 | 0,467 | 0,456 | -0,011 | |
| H12 | 0,486 | 0,472 | -0,014 | |

Merknader:

- 1) Resultatene fra denne serien har litt redusert nøyaktighet på grunn av et uhell ved tilførsel av næringsløsning.
- 2) Disse konsentrasjonsseriene ble mest sannsynlig byttet om ved tilføring av næringsløsning. De er her satt opp med antatt riktig konsentrasjonsverdi.
- 3) Næringsløsningene med kadmium ble ved et uhell tilsatt en mikrotiterplate hvor alle brønnene var inokulert. Kontrollverdiene er i resultatdelen de samme som for Hg_2^{2+} .
- 4) Absorpsjonsverdien overskred plateleserens arbeidsområde. Som differanseverdi til resultatdelen er det benyttet en gjennomsnittsverdi av de fem resterende parallelle differanseverdiene.

Elektronegativitet og toksisitet

| log[M] | $e^{-0.25x^2}$ | elektr | x | just e | reg(y) | reg(elektr) |
|---------------------------|----------------|--------|-----|--------|--------|-------------|
| -0,41 | 0,486 | 1,8 | 1,7 | 1,8 | -0,480 | 1,973 |
| -0,82 | 0,486 | 1,8 | 1,7 | 1,8 | -0,250 | 1,897 |
| -1 | 0,527 | 1,9 | 1,6 | 1,9 | -0,250 | 1,897 |
| -0,32 | 0,486 | 1,8 | 1,7 | 1,82 | -0,030 | 1,822 |
| -0,03 | 0,486 | 1,8 | 1,7 | 1,78 | -0,030 | 1,822 |
| -0,43 | 0,527 | 1,9 | 1,6 | 1,88 | -0,030 | 1,822 |
| -0,42 | 0,527 | 1,9 | 1,6 | 1,88 | -0,030 | 1,822 |
| -0,47 | 0,527 | 1,9 | 1,6 | 1,9 | 0,200 | 1,743 |
| -0,33 | 0,406 | 1,6 | 1,9 | 1,6 | 0,410 | 1,669 |
| -0,18 | 0,486 | 1,8 | 1,7 | 1,8 | 0,410 | 1,669 |
| 0,53 | 0,406 | 1,6 | 1,9 | 1,6 | 0,490 | 1,64 |
| 0,62 | 0,368 | 1,5 | 2 | 1,5 | 0,930 | 1,475 |
| -0,27 | 0,368 | 1,5 | 2 | 1,5 | 1,160 | 1,383 |
| -1,52 | 0,445 | 1,7 | 1,8 | 1,7 | * | |
| 0,61 | 0,57 | 2 | 1,5 | 2 | * | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| Regression Output: | | | | | | |
| Constant | | 3,464 | | | | |
| Std Err of Y Est | | 0,305 | | | | |
| R Squared | | 0,676 | | | | |
| No. of Observations | | 11 | | | | |
| Degrees of Freedom | | 9 | | | | |
| X Coefficient(s) | | -7,065 | | | | |
| Std Err of Coef. | | 1,631 | | | | |

Verdier fra initiell veksthemming

| Id | Mycel-areal (mm ²) | Mycel-omkrets (mm) | Grop-areal (mm ²) | Grop-omkrets (mm) | Enh,1 | Enh,2 | Tid (døgn) | Radius (mm) | Kal. radius (mm) | Hast (mm/døgn) | r,g (mm) |
|----------|--------------------------------|--------------------|-------------------------------|-------------------|-------|-------|------------|-------------|------------------|----------------|----------|
| Mg 26 | 66,13 | 26,92 | 9,1 | 10,84 | 1,329 | - | 7,333 | 4,588 | 3,453 | 0,369 | 1,281 |
| Mg 3 | 50,91 | 23,54 | 11,48 | 11,18 | 1,602 | 1,64 | 7,333 | 4,026 | 2,513 | 0,24 | 1,193 |
| Al 8 | 272,8 | 52,8 | 14,87 | 13,75 | 1,61 | 1,595 | 4,153 | 9,319 | 5,788 | 1,213 | 1,351 |
| Al 11 | 63,31 | 26,31 | 9,19 | 10,91 | 1,341 | - | 4,153 | 4,489 | 3,348 | 0,626 | 1,276 |
| Al 13 | 109,9 | 34,31 | 10,51 | 11,65 | 1,332 | - | 4,153 | 5,914 | 4,439 | 0,888 | 1,373 |
| Cr 1 | 174 | 43,79 | 15,82 | 14,43 | 1,664 | - | 3,243 | 7,442 | 4,473 | 1,148 | 1,349 |
| Cr 7 | 193,1 | 45,58 | 15,6 | 14,43 | 1,613 | - | 3,243 | 7,84 | 4,862 | 1,268 | 1,382 |
| Cu 2 | 222,5 | 47,62 | 17,28 | 15,17 | 1,629 | 1,64 | 4,142 | 8,416 | 5,165 | 1,066 | 1,439 |
| Cu 10 | 140,4 | 38,98 | 5,77 | 8,47 | 1,055 | 1,052 | 4,142 | 6,684 | 6,339 | 1,349 | 1,285 |
| Cu 12 | 135,1 | 39,39 | 8,3 | 10,02 | 1,347 | - | 4,142 | 6,557 | 4,867 | 0,994 | 1,206 |
| FeII 14 | 140,4 | 39,05 | 11,21 | 12,26 | 1,342 | - | 5,038 | 6,684 | 4,98 | 0,84 | 1,407 |
| FeII 22 | 80,3 | 29,8 | 12,33 | 12,87 | 1,363 | - | 5,038 | 5,056 | 3,708 | 0,587 | 1,453 |
| FeII 23 | 74,03 | 28,65 | 10,71 | 11,11 | 1,344 | - | 5,038 | 4,854 | 3,612 | 0,568 | 1,374 |
| FeIII 27 | 74,66 | 29,67 | 9,94 | 11,38 | 1,308 | - | 3,271 | 4,875 | 3,726 | 0,91 | 1,36 |
| FeIII 9 | 105,5 | 33,05 | 14,87 | 13,89 | 1,629 | - | 3,271 | 5,794 | 3,558 | 0,858 | 1,336 |
| Ni 17 | 155,6 | 39,89 | 7,87 | 10,09 | 1,332 | 1,392 | 6,014 | 7,037 | 5,284 | 0,754 | 1,189 |
| Pb 24 | 40,89 | 21,51 | 9,95 | 11,04 | 1,343 | - | 5,073 | 3,608 | 2,686 | 0,382 | 1,325 |
| Pb 25 | 140 | 37,49 | 10,03 | 10,84 | 1,331 | 1,396 | 5,073 | 6,676 | 5,017 | 0,841 | 1,343 |
| Pb 6 | 193,8 | 45,08 | 12,86 | 12,87 | 1,633 | 1,65 | 5,073 | 7,854 | 4,809 | 0,8 | 1,239 |
| Cd 16 | 27,43 | 17,27 | 9,39 | 11,11 | 1,328 | - | 4,208 | 2,955 | 2,225 | 0,351 | 1,302 |
| HgI 15 | 39,34 | 20,15 | 10,31 | 11,18 | 1,341 | - | 2,264 | 3,539 | 2,639 | 0,834 | 1,351 |
| HgI 20 | 52,67 | 23,5 | 9,11 | 10,84 | 1,325 | - | 2,264 | 4,095 | 3,091 | 1,034 | 1,286 |
| HgI 21 | 48,15 | 22,62 | 10,12 | 10,91 | 1,345 | - | 2,264 | 3,915 | 2,91 | 0,954 | 1,334 |
| HgII 18 | 63,21 | 25,26 | 10,11 | 10,84 | 1,344 | - | 2,292 | 4,486 | 3,338 | 1,129 | 1,335 |
| HgII 19 | 50,47 | 23,16 | 10,71 | 11,04 | 1,342 | - | 2,292 | 4,008 | 2,986 | 0,976 | 1,376 |
| HgII 4 | 57,97 | 24,01 | 12,11 | 12,33 | 1,602 | 1,626 | 2,292 | 4,296 | 2,682 | 0,843 | 1,226 |

