80562

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
UNICAMP

SECRETARIA DE PÓS GRADUAÇÃO

BC/13118
IB/80562

Gisela Umbuzeiro Valent

INSTITUTO DE BIOLOGIA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA DE EXTRATOS ORGÂNICOS DE CORPOS D'ÁGUA DO ESTADO DE SÃO PAULO ATRAVÉS DO TESTE DE AMES

Orientador: Prof. Dr. Renato Bonatelli Jr.

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas, área de Genética.

T/UNICAMP

V234a

1990
CAMPINAS SP

Este exemplar corresponde a Redação Final da Tese defendida pela candidata Gisela Umbuzeiro Valent e aprovada pela Comissão Julgadora. 22.10.90

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA DE EXTRATOS ORGÂNICOS DE CORPOS D'ÁGUA DO ESTADO DE SÃO PAULO ATRAVÉS DO TESTE DE AMES.

Gisela Umbuzeiro Valent

Orientador: Prof. Dr. Renato Bonatelli Jr.

91000900-IB

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas, área de Genética.

Campinas - SP
1990

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

CLASSIF. T
AUTOR V234a
V. EX.
TOMBO BC/ 13118
I.B. 965
CM00050783-0

Dedico

aos meus pais Paulo e Ilza
meu esposo, Dante
minhas filhas, Giovana e
Isabela

Somos profissionais

não vamos agredir
agredir não é fácil, mas transfere responsabilidades
viemos aqui para cumprirmos a nossa missão
a de artistas, não a de juízes do nosso tempo
a de investigadores
a de descobridores
ligar a natureza humana à natureza histórica
não estamos atrás de descobertas
não somos profissionais do espanto
para achar a água é preciso descer terra adentro
encharcar-se no lodo
mas há os que preferem olhar os céus
e esperar pelas chuvas.

Oduvaldo Vianna Filho.

AGRADECIMENTOS

Quero expressar meus agradecimentos às pessoas e instituições que contribuiram para a realização deste trabalho:

Ao Prof. Dr. Renato Bonatelli Jr. pela orientação, incentivo constante e amizade.

Aos Professores: Dr. Aquiles Piedrabuena, Dr. Cláudio Luis Messias, Dr. João Lúcio de Azevedo, Dra. Maria Therezinha Martins, Dr. Paulo Arruda pela atenção na leitura e valiosas sugestões durante a análise prévia desta tese.

A Dra. Petra S. Sanchez pela oportunidade e confiança sem as quais este trabalho não teria sido realizado.

A Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental através da Divisão de Análises Microbiológicas pelos recursos técnico-científicos colocados à disposição.

Aos diretores da Cetesb, em especial ao Eng. Nelson Vasconcelos e Eng. Paulo Salvador Filho pelo apoio e facilidades concedidas.

A Biom. Maria Inês Z. Sato pela ajuda e valiosas sugestões.

Ao Prof. Dr. Boris Schneidermann pelo auxílio na parte estatística.

A Maria Cristina L. S. Coelho e Carlos Alberto Coimbrão pela incalculável ajuda na parte prática deste trabalho.

Ao funcionários do Setor de Microbiologia e Bacteriologia da Cetesb pelo valioso auxílio.

Aos funcionários do Setor de Águas Interiores, do Setor de Operações de Campo e das Regionais da Cetesb pela colaboração nos trabalhos de coleta de amostras.

A Clarice Botta Paschoal, Eloisa de Vito Furlan e Niva Deanna Celestino pela ajuda e companheirismo.

A Maria Regina Calil pela grande amizade demonstrada todos esses anos e pelo apoio constante.

Aos meus colegas do Departamento de Genética e Evolução da UNICAMP, em especial Marcia Masiero e Airton Vialta pelo estímulo.

Ao Banco Interamericano de Reconstrução e Desenvolvimento-BIRD (USA), através do Projeto PROCOP/CETESB pelo auxílio financeiro.

E finalmente ao meu esposo Dante que dividiu comigo este trabalho, sempre demonstrando paciência e carinho.

Este trabalho foi realizado na Divisão de Análises Microbiológicas da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (Cetesb), com auxílio financeiro do Programa de Controle da Poluição (PROCOP).

ÍNDICE

1. Introdução..... 1

2. Revisão Bibliográfica..... 3
2.1. Importância da detecção de mutágenos no meio ambiente..... 3
2.2. O teste de Ames..... 6
2.3. Promutágenos..... 11
2.4. Extração orgânica de amostras de água..... 12
2.5. Atividade mutagênica de amostras de água detectada através do teste de Ames..... 13

3. Material e Métodos..... 24
3.1. Seleção da área de estudo..... 24
3.2. Amostragem..... 31
3.3. Preparo da Amostra..... 31
3.4. Meios de Cultura e Soluções..... 33
3.4.1. Meios de Cultura..... 33
3.4.1.1. Agar mínimo..... 33
3.4.1.2. Caldo Nutriente..... 33
3.4.1.3. Agar de Superfície ("Top Agar")..... 33
3.4.1.4. Caldo de Soja e triptona (TSB)..... 34
3.4.2. Soluções..... 34
3.4.2.1. Solução de biotina e histidina 0,5 mM.... 34
3.4.2.2. Solução de biotina 0,5 mM..... 34
3.4.2.3. Solução de histidina 0,5%..... 34
3.4.2.4. Solução de ampicilina..... 34
3.4.2.5. Mistura S9..... 35
3.4.2.5. a) Fração S9..... 35
3.4.2.5. b) Solução de cloreto de potássio 1,65 M..... 35
3.4.2.5. c) Solução de cloreto de magnésio 0,4 M..... 35
3.4.2.5. d) Solução de glicose-6-fosfato 1 M.... 35

3.4.2.5. e) Solução de NADP 0,1 M..... 36
3.4.2.5. f) Tampão fosfato 0,2 M..... 36
3.4.2.6. Solução de azida sódica..... 36
3.4.2.7. Solução de 2-acetil-aminofluoreno..... 36
3.4.2.8. Solução de cristal violeta..... 36
3.4.3. Substâncias adicionadas aos meios de cultura..... 37
3.4.4. Esterilização e Incubação..... 37
3.5. Linhagens utilizadas..... 38
3.6. Preparo da placa "master"..... 39
3.6.1. Mutação rfa..... 39
3.6.2. Plasmídio pKM101..... 40
3.6.3. Deleção uvrB..... 40
3.6.4. Taxa de reversão espontânea..... 40
3.7. Procedimento do ensaio..... 41
3.8. Interpretação e avaliação dos resultados..... 43

4. Resultados..... 48
4.1. Resultados do teste de Ames para cada ponto analisado..... 48
4.2. Resumo dos resultados do teste de Ames dos corpos d´água analisados..... 66
4.3. Distribuição sazonal da mutagenicidade detectada nos diversos corpos d´água analisados..... 67
4.4. Efeito do sistema de metabolização (mistura S9) na mutagenicidade dos corpos d´água analisados... 69
4.5. Análise da mutagenicidade das amostras através das duas cepas empregadas (TA98 e TA100)..... 70

5. Discussão..... 73
5.1. Atividade mutagênica dos corpos d´água analisados..... 73
5.2. Distribuição sazonal da mutagenicidade detectada nos diversos corpos d´água analisados..... 76
5.3. Efeito do sistema de metabolização - mistura S9.. 76

5.4. Análise da mutagenicidade através das duas cepas empregadas (TA98 e TA100)..... 77

6. Conclusões..... 79

7. Resumo..... 81

8. Abstract..... 83

9. Referências Bibliográficas..... 84

Apêndice de Tabelas..... 96

LISTA DE FIGURAS

FIGURA

1 - Localização dos pontos de coleta no mapa do Estado de São Paulo..... 25
2 - Esquema do teste de Ames 42
3 - Fluxograma de análises dos dados do teste de Ames de acordo com o programa Salmonel..... 46
4 - Resultados do teste de Ames para o Rio Tietê - TE1040..... 49
5 - Resultados do teste de Ames para o rio Tietê - TE2400..... 50
6 - Resultados do teste de Ames para o rio Cotia - CO2070..... 51
7 - Resultados do teste de Ames para o rio Paraíba do Sul - PA2087..... 53
8 - Resultados do teste de Ames para o rio Paraíba do Sul - PA2180..... 54
9 - Resultados do teste de Ames para o rio Capivari - CA2200..... 56
10 - Resultados do teste de Ames para o rio Embu Mirim - EM1200..... 58
11 - Resultados do teste de Ames para o rio Paranapanema - PR2050..... 60
12 - Resultados do teste de Ames para o rio Mogi Guaçú - MG2150..... 62
13 - Resultados do teste de Ames para o rio Corumbataí - CR2500..... 64
14 - Resultados do teste de Ames para o rio Jaguari - JA2800..... 65
15 - Resumo dos resultados do teste de Ames dos corpos d´água estudados..... 66

16 - Distribuição da porcentagem de amostras que apresentaram atividade mutagênica durante os meses de estudo e a média da temperatura da água em oC..... 68
17 - Número de revertentes por litro das amostras mutagênicas frente as cepas analisadas com e sem S9..... 71

LISTA DE TABELAS

TABELA

1 - Características genéticas das cepas de S. typhimurium..... 9
2 - Resultados do teste de Ames, métodos de extração e concentração utilizados por diversos autores na avalição de mutagenicidade de água bruta.... 23
3 - Atividade mutagênica das amostras frente as cepas testadas durante o período de estudo..... 72

LISTA DE TABELAS DO APÊNDICE

TABELA

A1 Resultados do teste de Ames para o ponto 1 - JM2050..... 96

A2 Resultados do teste de Ames para o ponto 2 - TE1040..... 99

A3 Resultados do teste de Ames para o ponto 3 - TE2400..... 102

A4 Resultados do teste de Ames para o ponto 4 - CO2070..... 105

A5 Resultados do teste de Ames para o ponto 5 - PA2087..... 108

A6 Resultados do teste de Ames para o ponto 6 - PA2180..... 111

A7 Resultados do teste de Ames para o ponto 7 - CA2200..... 114

A8 Resultados do teste de Ames para o ponto 8 - EM1200..... 117

A9 Resultados do teste de Ames para o ponto 9 - GR2100..... 120

A10 Resultados do teste de Ames para o ponto 10 - PR2050..... 123

A11 Resultados do teste de Ames para o ponto 11 - MG2150..... 126

A12 Resultados do teste de Ames para o ponto 12 - CR2500..... 129

A13 Resultados do teste de Ames para o ponto 13 - JA2800..... 132

1. INTRODUÇAO

O ecossistema aquático vem sendo poluído constantemente através de despejos de várias origens, como por exemplo, industrial, agrícola ou doméstica. O estabelecimento de critérios para avaliação da qualidade dessas águas é complexo e tem sido uma preocupação constante dos pesquisadores na área de controle da poluição ambiental em todo mundo. Para que esse controle seja efetivo é necessário que tanto quem gera poluição como os órgãos controladores e os pesquisadores, tenham consciência dos problemas ecológicos e dos riscos à saúde que os diversos tipos de poluentes podem causar e que as decisões sejam tomadas de uma maneira integrada.

Atualmente o Estado de São Paulo, através do seu órgão controlador da poluição, a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB), monitora a qualidade das águas interiores através do Índice de Qualidade das águas (IQA) e o Índice de Toxicidade (IT). Esses índices levam em consideração alguns parâmetros físicos e químicos, porém os compostos orgânicos com atividade mutagênica não são incluídos nos referidos índices. A análise destes compostos é de grande importância pois eles interagem com o material genético das células, causando mutações e dessa forma podendo aumentar a incidência de câncer e de doenças hereditárias nas populações expostas. A identificação química dos mesmos em amostras de água é muito complexa, pois requer aparelhagem sofisticada e de alto custo como espectrômetros de massa e cromatógrafos além de envolver várias etapas de fracionamento químico o que dificulta muito as análises de rotina.

Devido a esta dificuldade existe uma tendência nos últimos anos da aplicação de bioensaios microbianos que identificam diretamente o efeito que estes compostos podem causar para avaliação da mutagenicidade de amostras de água. Esses bioensaios microbianos fornecem resposta rápida, são de fácil execução e levam em conta as reações que possam ocorrer entre os diferentes compostos presentes na água, além de serem bem menos

onerosos que as análises químicas.

O estudo dos compostos com atividade mutagênica presentes em amostras ambientais através de bioensaios microbianos tem se intensificado muito desde a década de 70. Hoje já se tem conhecimento da presença e distribuição desses compostos em águas de rios, lagos e água para consumo, em países como os Estados Unidos, Canadá, Japão, Holanda etc.

No Brasil, por serem ainda pouco frequentes os estudos nessa área, se torna de grande importância o conhecimento da mutagenicidade presente em águas de mananciais que são utilizadas como fonte de abastecimento público. Estudos esses que podem ser realizados através de bioensaios que forneçam respostas rápidas e de baixo custo aplicáveis tanto em estudos de monitoramento bem como em situações de emergência. Resultados obtidos através desses ensaios podem ser úteis para complementar a avaliação da qualidade das águas, e também, no estabelecimento de critérios para o controle dessas substâncias no meio ambiente.

Sendo assim, este trabalho tem como objetivo avaliar a presença de atividade mutagênica em extratos orgânicos de amostras de corpos d´água do Estado de São Paulo que são utilizados principalmente como fonte de abastecimento público, utilizando um bioensaio microbiano denominado Teste de Ames, e verificar sua aplicação em estudos de monitoramento da qualidade das águas.

2. REVISAO BIBLIOGRÁFICA

2.1. IMPORTANCIA DA DETECÇAO DE MUTÁGENOS NO MEIO AMBIENTE.

A detecção de mutágenos no ambiente tem importância principalmente quanto a dois aspectos, em relação à carcinogênese, e em relação à doenças hereditárias.

Durante os últimos 30 anos foram reunidas cada vez mais evidências de que o câncer é uma doença genética e que pode ser entendida como o resultado de várias mutações que se acumulam no DNA de uma única célula somática, levando a perda do controle de crescimento (**WATSON e col.**, 1987).

Sabe-se também que muitos agentes químicos que causam câncer em animais também causam mutações em testes "in vitro" (**TENNANT e col.**, 1987 ; **AULETA e ASHBY**, 1988), e em um determinado câncer de bexiga foi provado que as células cancerígenas diferiam da célula normal por mutação em uma única base (**GIBBONS**, 1982).

Outra observação que reforça que o câncer provém de efeitos mutacionais é que indivíduos que apresentam deficiência no processo de reparo de DNA são mais suscetíveis a desenvolveram a doença (ex.: câncer de pele em indivíduos portadores de Xeroderma pigmentosum, doença causada pela ausência do reparo de excisão).

Assim podemos inferir que quanto maior a exposição de uma população a agentes mutagênicos maior a incidência de câncer nos indivíduos.

O ambiente desempenha um papel fundamental na etiologia da doença e sabe-se que 92% dos tipos de câncer encontrados atualmente são do tipo carcinoma, câncer que se desenvolve a partir das células epiteliais, que recobrem a superfície dos orgãos (pele, intestino, pulmão etc.), e são justamente estes tecidos que estão em contacto com o ambiente através do ar , alimento e água. Além disso a incidência dos diversos tipos de câncer variam tanto geograficamente como ocupacionalmente. (**WATSON e col.**, 1987).

Outra consideração é que mutágenos agindo em células germinativas (basicamente óvulos e espermatozóides) causam modificações no material genético ou seja, mutações, que podem levar à maior incidência de doenças genéticas, sendo que as mais facilmente identificadas nas populações são as de caráter dominante e aquelas causadas por aberrações cromossômicas (**SAXENA**, 1984).

Os compostos mutagênicos presentes no meio ambiente podem ser tanto de origem natural (ex. toxinas de microrganismos) como de origem antrópica (ex. efluentes industriais, agrotóxicos), formando uma mistura complexa. Para se ter uma idéia da complexidade das amostras ambientais como água bruta por exemplo, em termos de diversidade de poluentes orgânicos **KRAYBILL e col.** (1979) encontraram e identificaram 729 compostos orgânicos diferentes nesse tipo de amostra e, o número de compostos que pode estar presente na água de consumo após tratamento, pode exceder 1200 (**BULL**, 1981).

Existem várias maneiras de se observar a relação entre doenças e exposição dos indivíduos a amostras ambientais, tais como água ou ar. O estudo epidemiológico é o método mais direto para demonstrar essa relação porém está sujeito a muitas limitações (**TYE e WAITE**, 1981). Em 1976 foi realizado um estudo deste tipo por **PAGE e col.** e foi demonstrado através de regressão múltipla uma relação entre mortalidade por câncer e consumo de água tratada obtida do rio Mississipi, em Louisiana, EUA, sabidamente poluído com mutágenos. Os autores observaram que essa relação foi positiva em especial para câncer do trato urinário e câncer do trato gastrointestinal.

Em 1982, **GOTTLIEB e CARR** demonstraram uma relação significativa entre o uso de água clorada de Louisiana e a incidência de câncer de reto. Também em 1982, **KANAREK e YOUNG**, estudando a relação entre água tratada e câncer como causa de morte em Wisconsin, EUA, observaram uma relação entre câncer intestinal e presença de trialometanos em água (compostos mutagênicos, formados a partir de ácidos húmicos e tratamento por cloro).

Porém, estes estudos são raros, extremamente caros e na maioria das vezes geram resultados duvidosos, não permitindo conclusões definitivas, devido a forma que são conduzidos.

Uma alternativa tradicional para detectar mutágenos ou carcinógenos é a inoculação das amostras ou compostos em animais teste suscetíveis e a demonstração de mutações ou indução de tumores após a exposição (testes "in vivo"). Essa maneira é mais rápida que os estudos epidemiológicos, entretanto, estes ensaios envolvem o uso de muitos animais, são trabalhosos e onerosos, dificultando a avaliação de um grande número de amostras em curto espaço de tempo.

Como exemplo de estudo "in vivo" podemos citar o realizado por **PREIN e col.** (1978) onde foi observado a indução de um maior número de aberrações cromossômicas (30% de quebras) em peixes (Umbra pygmaea) mantidos em águas do Rio Rhine, Holanda, durante 11 dias, que em peixes mantidos em água não poluída (7% de quebras cromossômicas).

Em vista das dificuldades de realização dos ensaios epidemiológicos e "in vivo", foram desenvolvidos vários métodos "in vitro", em especial utilizando-se microrganismos, que tem se mostrado uma boa alternativa no monitoramento de um grande número de amostras ambientais (**TYE e WAITE**, 1981). Dentre suas vantagens podemos citar a simplicidade, baixo custo, sensibilidade e alta reprodutibilidade (**SAXENA**, 1984).

Atualmente os testes de mutagenicidade mais utilizados em amostras ambientais são os que utilizam bactérias e, em especial, o Teste de Ames.

2.2. O TESTE DE AMES

O teste de Ames foi desenvolvido Dr. Bruce AMES na década de 70 (**AMES**, 1971; **AMES e col.**, 1975) e revisado por **MARON & AMES** (1983). Em 1987 **CLAXTON** e col. apresentaram as principais orientações e recomendações para a realização desse ensaio e interpretação de resultados. O teste emprega cepas de Salmonella typhimurium, derivadas da linhagem parental LT2 auxotrófica para histidina (his$^-$), especialmente construídas para detectar mutações do tipo deslocamento do quadro de leitura ("frameshift") ou substituição de pares de base ("base pair substitution"). Estas cepas são incapazes de crescer em meio de cultura sem histidina, a menos que ocorram mutações que restaurem a síntese da histidina. A frequência de reversão é facilmente medida pela contagem das colônias que crescem no meio mínimo após a exposição de uma população de células a um agente mutagênico. Neste teste inclui-se um sistema de ativação metabólica (mistura S9) para detecção de promutágenos ou mutágenos indiretos (item 2.3).

Segundo **AMES & MC CANN** (1976) e **MC CANN & AMES** (1977) a sensibilidade e versatilidade das cepas do teste de Ames são devidas a vários fatores tais como os descritos a seguir.

A maioria das cepas apresenta uma deleção do gene uvrB, o que causa a perda da capacidade de reparo por excisão e aumenta a sensibilidade das cepas na detecção de mutágenos (**ALPER e AMES**, 1975).

Algumas cepas contém o plasmídio pKM101 que, além de conferir resistência à ampicilina, contém o gene muc, cuja expressão causa um estímulo no sistema de reparo suscetível ao erro ("error prone") normalmente presente nesses microrganismos pois o produto desse gene interfere na fidelidade da DNA polimerase (**MC CANN e col.**, 1975; **HOLLSTEIN e col.**, 1979; **MARON & AMES**, 1983).

Todas as cepas apresentam uma mutação denominada rfa que causa perda parcial da barreira de lipossacárides da parede bacteriana, facilitando a difusão de moléculas grandes como aminas aromáticas, hidrocarbonetos policíclicos e aflatoxinas

para dentro da célula (**AMES e col.**, 1975).

São várias as cepas indicadoras descritas e as mais utilizadas são TA1535, TA100, TA1538, TA98, TA1537, TA97a e TA102.

Nas cepas TA1535 e TA100 o alvo de reversão é a mutação hisG46, no gene que codifica para a primeira enzima da biossíntese da histidina (**AMES** , 1971). **BARNES e col.**(1982) sequenciaram o DNA da linhagem selvagem e da mutante mostrando que a alteração ocorreu no codon CTC (leucina) da linhagem selvagem que foi modificado para CCC (prolina) na linhagem mutante. As cepas TA1535 e sua derivada TA100 (TA1535 mais o plasmídio pKM101) detectam mutágenos que causam substituição de pares de bases e, primariamente, nos pares G-C.

As cepas TA1538 e sua derivada TA98 (TA1538 mais o plasmídio pKM101) tem a mutação hisD3052 no gene que codifica para a histidinol desidrogenase. Essas duas cepas detectam mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura ("frameshift"). Os mutágenos deste tipo podem restaurar os codons alterados nas sequências repetitivas ou "hot spots" das linhagens mutantes. Segundo **ISONO e YOURNO** (1974) e **MARON & AMES** (1983), próximo do sítio de mutação "frameshift" -1 hisD3052 está presente uma sequência "hot spot" CGCGCGCG.

A cepa TA1537 tem uma mutação "frameshift" denominada hisC3076 e um "hot spot" de várias citosinas (**AMES e col.**, 1975). A cepa TA97, foi desenvolvida por **LEVIN e col.** (1982a) para substituir a cepa TA1537. A cepa TA97 apresenta as mutações hisO1242 e hisD6610. A mutação hisD6610 foi desenvolvida a partir da hisD3018 e foi sequenciada. Ela tem também dois "hot spots", um composto por uma série de citosinas, e outro, composto por uma série de guaninas e citosinas alternadas o que a tornou mais sensível à vários mutágenos que a TA1537. Em 1985 a cepa TA97 foi reconstruída por **AMES**, B. (comunicação pessoal), pois ela apresentava baixa viabilidade. A nova cepa com as mesmas características foi denominada TA97a. Tanto a TA97 como a TA97a apresentam uma desvantagem, devido a presença da mutação hisO1242, elas são sensíveis a altas concentrações de glicose, sendo recomendado

portanto o uso de placas de agar mínimo contendo 0,4% de glicose, ao invés de 2% como é usual.

A cepa TA102 apresenta uma mutação ochre no gene hisG428, ou seja TAA no lugar de CAA da cepa selvagem. O gene hisG428 foi inserido em um plasmídio pBR322, contendo gene para resistência a estreptomicina e a região his O, G, D e C da Salmonella, tendo sido denominado pAQ1. O plasmídio pAQ1 foi utilizado para transformar cepas especiais de S. typhimurium com deleção do gene hisG8476 cromossomal. Também foi introduzido o plasmídio pKM101 e a cepa final obtida foi a seguinte: his Δ G8476, rfa, pAQ1 e pKM101. Nesta cepa o alvo de mutação (hisG428) está no plasmídio de múltiplas cópias ("multicopy") pAQ1, o qual está presente em aproximadamente 30 cópias por célula (**LEVIN e col.**, 1982b). Esta cepa detecta mutágenos que causam substituição de pares de bases e o alvo é o par AT. Elas são capazes de detectar compostos oxidantes e que causam "crosslinking" como, por exemplo, a mitomicina C que não era detectada por nenhuma das outras das cepas já citadas, apesar de potente mutágeno.

A **TABELA 1** mostra um resumo das características das cepas descritas acima.

Existem várias outras cepas de S. typhimurium desenvolvidas pelo grupo do Dr. Ames e por outros pesquisadores com diferentes aplicações, porém, utilizadas com menos frequência, como a cepa TA104, que contém a mutação ochre hisG428 no cromossomo bacteriano, deleção uvrB e plasmídio pKM101, a qual detecta preferencialmente compostos oxidantes e aldeídos similarmente à cepa TA102 (**LEVIN e col.**, 1982b). Outro exemplo é a cepa SO1007 que contém a mutação amber no gene trpD28 e o plasmídio pKM101 e foi desenvolvida por **BALBINDER e KERRY** (1984), podendo ser usada como indicador não específico de mutagênese, pois é capaz de sofrer reversão por diversas classes de mutágenos.

Existem algumas cepas variantes da TA98 e TA100 nitroredutase deficientes que foram isoladas por **MERMELSTEIN e col.** (1981) (cepas TA98NR e TA100NR) e por **MC COY e col.** (1981) (TA98 1,8DNPG) e podem ser usadas no estudo de nitrocompostos.

TABELA 1. Características Genéticas das cepas de *Salmonella typhimurium*

Cepa	Mutação para histidina (gene afetado)	Tipo de mutação	Alvo da mutação	Taxa de reversão espontânea	LPS	Reparo	Mutação para biotina	Plasmídio
TA1535	*his* G 46	base pair	GC	20-35	*rfa*	Δ *uvr* B	*bio*$^-$	-
TA1537	*his* C 3076	frameshift	GC	5-25	*rfa*	Δ *uvr* B	*bio*$^-$	-
TA1538	*his* D 3052	frameshift	GC	15-35	*rfa*	Δ *uvr* B	*bio*$^-$	-
TA97a	*his* D 6610	frameshift	GC	90-180	*rfa*	Δ *uvr* B	*bio*$^-$	pKM$_r$101 (Ap^r)
TA98	*his* D 3052	frameshift	GC	25-75	*rfa*	Δ *uvr* B	*bio*$^-$	pKM$_r$101 (Ap^r)
TA100	*his* G 46	base pair	GC	75-225	*rfa*	Δ *uvr* B	*bio*$^-$	pKM$_r$101 (Ap^r)
TA102	*his* G 428	base pair	AT	240-320	*rfa*	+	*bio*$^+$	pKM$_r$101 (Ap^r) pAQ$_r$1 (Tt^r)

1. *his* - mutação do gene responsável pela síntese da histidina
2. LPS - permeabilidade da membrana de lipossacárides
3. Δ *uvr* B - deleção do gene uvr B
4. Ap^r - ampicilina resistente
5. Tt^r - tetraciclina resistente

Com relação a estudos utilizando combinação de cepas podemos citar o método SIMULTEST desenvolvido por **NESTMANN** e col. (1987) que utiliza combinação de algumas cepas de S. typhimurium para testar uma amostra ou composto simultaneamente. Essas variações do teste de Ames podem ser úteis no estudo de amostras ambientais que estão normalmente disponíveis em quantidades reduzidas, inviabilizando o ensaio convencional. Outra modificação de método com os mesmos objetivos foi feita por **KADO** e col. (1983) onde utiliza-se a cultura da cepa teste, vinte vezes mais concentrada (10^{10}) e diminui-se a quantidade de amostra a ser testada e, consequentemente, da mistura S9 na mesma proporção. O teste de Ames assim modificado, tem sido denominado de ensaio de microssuspensão e tem grande aplicação na área de mutagênese ambiental onde a quantidade disponível de amostra, mesmo após concentração, é pequena.

A validação do teste de Ames como instrumento confiável na avaliação de carcinógenos e/ou mutágenos foi exaustivamente feita como pode ser observado nos trabalhos de **PURCHASE** e col. (1978), **DUNKEL** e col. (1985), **TENNANT** e col. (1987) e **AULETA** e **ASHBY** (1988). Como conclusão poderia ser afirmado que os ensaios genotóxicos, em geral, não são 100% precisos e que nenhum ensaio é capaz de detectar todos os carcinógenos conhecidos, o que faz do teste de Ames o principal teste de rotina devido a sua alta reprodutibilidade, baixo custo e uso muito generalizado, facilitando comparações entre resultados e permitindo a análise de várias amostras em curto espaço de tempo.

O teste de Ames vem sendo o principal teste empregado na avaliação de mutagenicidade de produtos químicos puros (**MCCANN** e col., 1975, **MORTELMANS** e col., 1986), de amostras atmosféricas (**HUGHES** e col., 1980) e de amostras ambientais líquidas, tanto efluentes industriais como de corpos d´água que os recebem (água de rios, lagos etc), além de água tratada como mostra a revisão apresentada no item 2.5.

2.3. PROMUTÁGENOS

Os promutágenos ou mutágenos indiretos são substâncias que não tem ação "per se" sobre o DNA, mas após serem metabolizadas no organismo, em especial de mamíferos, são convertidas em compostos altamente reativos com o DNA. A maioria dos promutágenos são lipofílicos em pH fisiológico e a excreção dos mesmos pelos mamíferos necessita da sua conversão em produtos hidrofílicos. Na maioria das vezes essa biotransformação é um processo de multiplos passos, catalizado por enzimas diferentes. Essas reações de metabolização são dependentes das mono-oxigenases que estão localizadas em vários tecidos do corpo e ficam nos microssomos das células e no envelope nuclear. Elas são enzimas complexas e são conhecidas como citocromos p450 e p448. As reações que essas enzimas catalizam são várias, tais como hidroxilação, dealquilação, sulfoxidação, oxidação, desulfuração e dehalogenação. Estudos tem demonstrado que o fígado é o órgão mais rico nessas enzimas e os roedores são os mamíferos que tem maior atividade das mesmas. (**KAPPAS e ALVARES**, 1975; **WRIGHT**, 1980).

Em alguns casos o sistema de metabolização pode inativar compostos mutagênicos tanto enzimaticamente como por ligações ao acaso entre espécies moleculares dos compostos com essas enzimas microssomais, tornando-os inativos ou menos ativos. (**KAMRA e col.**, 1983).

Consequentemente, é importante incluir homogenados de fígado de mamíferos ou humano nos ensaios "in vitro", para a metabolização desses compostos. Este sistema é denominado mistura S9, e o seu uso fortalece o significado biológico dos testes com microrganismos (**AMES e col.**, 1973). Como exemplos de promutágenos podemos citar a aflatoxina B, a esterigmatocistina, benzo[a]pireno e os hidrocarbonetos policíclicos em geral.

2.4. EXTRAÇÃO ORGANICA DE AMOSTRAS DE ÁGUA

A maioria das amostras de água, tanto tratada como não tratada (bruta) contém baixas concentrações de mutágenos para detecção direta no teste de Ames (**LOPER**, 1980; **GRABOW e col.**, 1981a; e **MEIER**, 1988), tornando-se necessário o emprego de métodos de extração e concentração para avaliação desses compostos adequadamente.

Atualmente existe uma grande variedade de métodos de concentração e/ou extração de mutágenos a partir de grande volumes de água, dentre eles podemos citar a liofilização (**FORSTER**, 1984), a osmose reversa (**KOPFLER e col.**,1977), a extração líquida/líquida (**GRABOW e col.**, 1981a) e a adsorção em resinas tipo Amberlite XAD_2 (estireno divinilbenzeno) ou outras (**DRESSLER**, 1979). Esses dois últimos métodos são os mais comumente utilizados, com especial ênfase para as resinas XAD, que, pela simplicidade da metodologia permite concentrar grandes volumes de água com relativa facilidade.

O manual da **EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY** (1985), que contém uma revisão bastante completa dos diversos métodos de extração existentes, recomenda o uso de resina XAD_2, seguida de eluição e concentração de 200 a 1000 vezes em solvente biologicamente compatível, para a análise de amostras de água frente ao teste de Ames. Segundo o manual, essa resina é capaz de extrair preferencialmente mutágenos, além de ser um método prático, rápido e permitir concentrações superiores a 200 vezes. **PELLIZZARI e col.**(1984) preparam um protocolo com o objetivo de normatizar o procedimento de extração orgânica de amostras de água, utilizando resinas XAD, e todas as condições de eluição e concentração foram estudados e padronizados pelos autores.

2.5. ATIVIDADE MUTAGÊNICA DE AMOSTRAS DE ÁGUA DETECTADA ATRAVÉS DO TESTE DE AMES.

PELON e col. (1977) analisaram através do teste de Ames 53 amostras de água do Rio Mississipi de 6 locais diferentes, durante 9 meses, sem concentração. Dessas 53 amostras, 27 (51%) apresentaram-se mutagênicas, e dessas 27, 15 necessitaram de ativação metabólica para se tornarem ativas. As cepas utilizadas foram TA1535, TA1536, TA1537, TA1538, TA98 e TA100, sendo que a TA1538 foi que forneceu mais respostas positivas. Os autores também observaram variação sazonal da mutagenicidade. Nos meses mais quentes (Agosto, Setembro e Outubro) houve aumento significativo da atividade mutagênica. Nos meses de inverno e primavera praticamente não foi observada atividade mutagênica nas amostras analisadas. Segundo os autores uma possível causa desta observação seria que a temperatura mais baixa dos rios no inverno reduz a atividade biológica do ecossistema, diminuindo assim a mutagenicidade, ou devido as nevadas e chuvas do inverno, os mutágenos ficariam mais diluídos rio.

GLATZ e col. (1978) analisaram água bruta e tratada de 14 cidades nos Estados Unidos através do teste de Ames com as cepas TA98, TA100, TA1535, TA1537 e TA1538 e observaram 43% de mutagenicidade (amostras positivas e com indícios de mutagenicidade) para as amostras de águas brutas analisadas, sendo que a TA98 e a TA100 foram as cepas mais sensíveis. Resultados similares foram observados para água tratada, porém, a porcentagem de amostras positivas subiu para 80%, mostrando que o tratamento com cloro aumentou a atividade mutagênica já existente nas respectivas amostras de água bruta além de gerar novos compostos mutagênicos.

CHEH e col. (1980) estudaram mutagenicidade de água clorada em laboratório concentrada em resina XAD_4 através do Teste de Ames. Os mutágenos formados foram provenientes do processo de cloração e a maior positividade foi observada com a TA100 na ausência de mistura S9. O número de revertentes por litro equivalente de amostra variou de 365 a 1318 para TA100 menos S9

nos diferentes experimentos realizados. Após tratamento da água com sulfito (SO_2), a mutagenicidade diminuiu aproximadamente 50%. Os autores sugeriram que o sulfito destruiu os mutágenos presentes e que o uso desse composto pode ser uma alternativa no tratamento de efluentes industriais ou água de consumo contaminadas com mutágenos.

DUTKA & SWITZER-HOUSE (1978) analisaram águas do Lago Ontario, águas da área do porto de Toronto e da Baía de Hamilton no Canadá, frente ao teste de Ames (TA1535, TA98 e TA100). Das 29 amostras analisadas 15 (52%) apresentaram positividade, sendo que 13 foram detectadas pela cepa TA1535. As amostras foram testadas sem concentração e concentradas 10 vezes em evaporador rotatório.

SAXENA & SCHWARTZ (1979) analisaram a presença de mutágenos em água reciclada, através do teste de Ames (TA100, TA1535 e TA98). As amostras só apresentaram-se positivas para a TA100 na ausência do sistema de metabolização enzimática, sendo que a presença do sistema reduziu a mutagenicidade.

SCHWARTZ e col. (1979) mostraram que o sistema de distribuição de água através da tubulação gerou mais atividade mutagênica detectada através da cepa TA100 na ausência da mistura S9, que a já existente na água tratada do Rio Ohio, EUA.

NESTMANN e col. (1979) observaram atividade mutagênica em extratos orgânicos de água do lago Ontario antes e após o tratamento com cloro utilizando o teste de Ames (TA98 e TA100). Os resultados obtidos mostraram que a adição da mistura não alterou a mutagenicidade dessas amostras, e que, a mutagenicidade aumentou após o tratamento. Também foi observado maior atividade mutagênica das águas tratadas no verão e início de outono, o que segundo os autores parecia ser devido a intensificação do tratamento, necessária em decorrência do aumento da população microbiana do rio, causada pela elevação da temperatura da água.

VAN KREIJL e col. (1980) avaliaram várias amostras de água do Rio Rhine e Meuse na Holanda usando o teste de Ames (TA98, TA100, TA1538 e TA1535). As amostras foram positivas principalmente para a TA98 na presença de mistura S9, indicando que a maioria dos mutágenos presentes eram do tipo "frameshift" e

eram indiretos. A mutagenicidade pode ser detectada a partir de 50 mL de água "in natura".

GRABOW e col. (1980) analisaram efluentes originários da área residencial de Pretoria e Kempton Park, águas do Rio Vaal e água de consumo de Pretoria na Africa do Sul, frente ao teste de Ames. As 3 amostras do Rio Vaal analisadas foram positivas para as cepas TA98, TA100, TA1537 e TA1538 na presença e ausência de mistura S9, porém, os maiores valores de razão de mutagenicidade foram para a cepa TA98, indicando a prevalência de mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura nessas amostras. Das 5 amostras de água tratada somente 2 apresentaram-se mutagênicas e, dos 4 efluentes testados de cada ponto, todos apresentaram mutagenicidade em pelo menos uma das cepas testadas.

MARUOKA & YAMANAKA (1980) analisaram água de um lago poluído com despejos municipais e de atividades agrícolas; água do Rio Katsura contaminada com resíduos industriais, municipais e de atividades agrícolas, e água subterrânea, teoricamente não poluída, frente ao teste de Ames utilizando as cepas TA98 e TA100. Somente a água do Rio Katsura apresentou mutagenicidade frente a cepa TA98 com e sem S9, sendo que a mutagenicidade aumentou com S9. Após o tratamento com cloro dos três tipos de água analisados somente a água subterrânea não apresentou mutagenicidade. Além disso, a mutagenicidade foi maior na água tratada oriunda do rio, mostrando que o processo de tratamento aumentou a atividade mutagênica já presente nas amostras.

LOPER (1980) em sua revisão sobre mutagenicidade em água tratada pode concluir que para TA100 o número de revertentes por litro de água "in natura" variou nos diversos trabalhos analisados de 20 a 2000 e a mutagenicidade geralmente diminuia na presença de S9. Novamente **LOPER** (1984) sugeriu que a mutagenicidade dependente da fração microssomal (prómutagenos ou mutágenos indiretos) tanto em água tratada como água bruta provavelmente se origina de fontes industriais ou da agricultura. A mutagenicidade que decresce na presença de S9 em água tratada (com a cepas TA98 e TA100 ou somente com a TA100) parece ser proveniente exclusivamente do tratamento com cloro de águas

brutas sem atividade mutagênica. Observação semelhante foi feita por **DOUGLAS e col.** (1986) ao estudarem atividade mutagênica de extratos de água tratada com cloro proveniente de água bruta não mutagênica dos Grandes Lagos do Canadá.

GRIMM-KIBALO e col. (1981) estudaram durante um ano, amostras mensais de água bruta e tratada, do reservatório de Des Moines, em Iowa, EUA, frente ao teste de Ames com as cepas TA98 e TA100. A atividade mutagênica observada tanto nas amostras de água bruta como tratada variou nas diversas estações do ano, tendo sido maior durante a primavera e verão diminuindo no outono e inverno. Os autores atribuiram esse aumento de atividade na primavera e verão à contaminação causada pelo carreamento de substâncias utilizadas na agricultura, e também, pela lixiviação causada pelas fortes chuvas que ocorrem nessa época do ano. A maior atividade mutagênica foi observada na amostra coletada em abril durante um período de inundação. Além disso, com relação a água tratada, a elevação tanto da temperatura como da concentração de compostos orgânicos na água bruta poderiam aumentar a formação de compostos halogenados durante os processos de cloração.

A atividade mutagênica detectada pelos autores variou de aproximadamente 1 a 10 revertentes por litro equivalente de água bruta e foi considerada baixa pelos autores.

FLANAGAN E ALLEN (1981) analisaram o potencial mutagênico de amostras do Lago Michigan, do Rio Calumet e do Rio Fox na cidade de Chicago, EUA, através do teste de Ames. O número de revertentes por litro para TA1538 foi de 2 a 3,2 para o Lago Michigan, 90 para o Rio Calumet e 14 para o Rio Fox, e foi observado também que a mistura S9 reduziu a mutagenicidade das amostras analisadas.

GRABOW e col. (1981b) estudaram a mutagenicidade de água tratada de Pretoria na Africa do Sul, através do teste de Ames e concluiram que o aumento de mutagenicidade observado na água tratada na primavera era devido ao aumento de precursores de mutágenos nas águas do rio Vaal, causado tanto pelas chuvas intensas comuns nessa estação do ano, como pelo maior crescimento

de algas no rio devido ao aumento de temperatura das águas.

KINAE e col. (1981) coletaram amostras de sedimento da costa do Oceano Pacífico nas cidades de Shinguu, Ooigawa e Tagonoura e após extração orgânica, avaliaram os extratos obtidos frente ao teste de Ames. Os autores obtiveram resultados positivos para as cepas TA98, TA100 e TA1537 e identificaram as seguintes substâncias que tinham atividade mutagênica: 2,4,6-triclorofenol, 3,4,5,6-tetracloroguaiacol, ácidos dehidroabiético, pireno e fluoranteno.

KOOL e col. (1982) analisaram água tratada de 18 cidades de Holanda, e 13 delas, apresentaram atividade mutagênica detectada através do Teste de Ames com as cepas TA98 e TA100. Os autores testaram extratos orgânicos obtidos através de concentração em resina XAD_4 e XAD_8 e o efeito dose resposta pode ser observado entre as doses de 0,5 a 3 litros de água equivalente.

MARUOKA & YAMANAKA (1982) estudaram a mutagenicidade das águas do rio Katsura na cidade de Kyoto, Japão, através do teste de Ames (TA1535, TA1538, TA98 e TA100) mensalmente, durante setembro a dezembro de 1980. A extração foi feita com resina XAD_2 e eluição com dietileter. A mutagenicidade foi detectada com a cepa TA98, especialmente na presença de mistura S9. As cepas TA1535 e TA100 não apresentaram ou apresentaram fraca resposta frente aos extratos analisados. O estudo envolveu fracionamento da amostra e a fração neutra foi responsável por praticamente toda a atividade mutagênica.

DE MARINI e col. (1982), avaliando água bruta e tratada do Lago Bloomington, em Illinois, EUA, através do teste de Ames utilizando a cepa TA98 e TA100 e água concentrada 3000 vezes com resina XAD_2, observaram mutagenicidade tanto na água bruta como água tratada para as duas cepas.

MARTINS e col.(1982) analisaram amostras de água tratada, bruta e esgoto procedentes da região da Grande São Paulo frente ao teste de Ames (TA98, TA100, TA1535 e TA1538) e observaram que 20% das amostras de água tratada, 44,1% das de água bruta e 64,3% das de esgoto apresentaram-se mutagênicas. Além disso a maioria das respostas positivas foi para a cepa TA98 indicando a

prevalência de mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura do DNA. Com relação à resposta na presença ou ausência de mistura S9, foi observado que a maioria dos mutágenos presentes na água bruta tinham ação direta sobre o DNA e apresentavam a mesma resposta na presença da fração.

NESTMANN e col. (1983) testaram amostras de 30 estações de tratamento de água do Canadá, frente ao teste de Ames utilizando as cepas TA98 e TA100. Os autores puderam concluir que a mistura S9 em nenhum caso aumentou nem foi responsável pela atividade mutagênica; houve diferença entre a atividade mutagênica no verão e no inverno mostrando a necessidade de monitoramento em ambas as estações; a cepa TA100 foi mais sensível para detecção de mutagenicidade da água tratada. Através de análise química, eles observaram que alguns dos compostos mutagênicos encontrados na água tratada já estavam presentes na água bruta, e outros foram gerados durante o tratamento.

ATHANASIOU & KYRTOPOULOS (1983) estudaram extratos orgânicos de água clorada das cidades de Atenas e Patras na Grécia através do teste de Ames (TA98 e TA100). Das 7 amostras analisadas durante 6 meses todas apresentaram mutagenicidade frente as cepas usadas, mas as de Atenas foram mais mutagênicas. Os autores sugerem que a principal causa desse aumento seja a contaminação maior da água bruta de Atenas com poluentes de origem agrícola, que interagindo com o cloro formariam mutágenos, tendo em vista que água de Patras é de origem subterrânea e, consequentemente, menos poluída.

MEIER e col. (1983) estudaram a genotoxicidade dos compostos formados pela reação do cloro com os ácidos húmicos, através do teste de Ames (TA98, TA100, TA1535, TA1537 e TA1538) . As amostras foram positivas para todas as cepas, porém foi fraca para a cepa TA1535. A adição da mistura S9 causou uma diminuição da mutagenicidade frente a todas as cepas, indicando a inativação dos mutágenos diretos presentes na amostra. Os ácidos húmicos antes do processo de cloração não apresentaram mutagenicidade nem na presença nem na ausência de mistura S9.

SATO e col. (1983) analisaram o sedimento do Rio Nagara no

Japão através do teste de Ames (TA98 e TA100). Utilizaram extratos fracionados e, observaram que a mutagenicidade estava associada principalmente aos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs).

FORSTER (1984) analisou amostras de água bruta e tratada provenientes de 16 estações de tratamento que utilizavam diferentes fontes de água, tanto subterrânea como de superfície. A concentração das amostras foi feita por liofilização. A maioria das amostras de água bruta apresentaram mutagenicidade para a TA98 e TA100 no teste de Ames modificado (teste de flutuação utilizando as cepas do teste de Ames). Após o tratamento essas águas continuaram apresentando atividade mutagênica frente às duas cepas, e os mutágenos detectados tinham atividade direta, não necessitando de ativação metabólica. Na maioria dos casos a mutagenicidade foi atenuada pela presença do sistema de metabolização.

VARTIAINEN & LIIMATAINEN (1986) estudaram a mutagenicidade de 48 amostras de água tratada e água bruta da cidade de Kuopio na Finlandia, através do teste de Ames (TA98 e TA100). Os autores observaram, após análise de regressão linear, que a água bruta apresentou fraca mutagenicidade, em média 300 revertentes por litro, já a água tratada apresentou em média 1700 revertentes por litro para a TA100 na ausência de mistura S9, mostrando que o tratamento aumentou a mutagenicidade já presente na água. Conclusão semelhante já havia sido feita por **MARUOKA & YAMANAKA** (1983), em seu trabalho com água clorada proveniente do rio Katsura, cujos resultados os levaram a concluir que a cloração produziu substâncias mutagênicas "de novo" e/ou aumentou a mutagenicidade já presente na água antes do tratamento.

VARGAS e col. (1988) analisaram efluentes industriais e água do rio Caí em pontos sob influência do complexo industrial petroquímico do Rio Grande do Sul, através do teste de Ames. O método utilizado foi o direto, sem concentração com volume máximo de 2 mL de água por placa. Os autores observaram resultados positivos para TA98 e TA100 com e sem ativação metabólica tanto para os efluentes industriais como para as amostras do Rio Caí.

Na maioria das amostras positivas do Rio Caí, a mutagenicidade foi somente observada na ausência da mistura S9, tendo sido eliminada pela adição da mistura S9, indicando a presença de mutágenos nessas águas que são detoxificados pelo S9.

GUTTMAN-BASS e col. (1987) estudaram a mutagenicidade do Lago Kinnereth em Israel através do teste de Ames (TA98, TA100 e TA104) e do ensaio de Bioluminescência BLT, usando Photobacterium fisheri (Vibrio fisheri). Os ensaios foram realizados somente sem ativação metabólica. Os autores observaram positividade para a cepa TA104 do teste de Ames e para P. fisheri.

MEIER (1988) em uma revisão sobre genotoxicidade em água de consumo (tratada) concluiu que a fonte dos compostos genotóxicos pode ser tanto proveniente da água bruta contaminada, ou daqueles gerados durante o tratamento, principalmente os oriundos da reação dos ácidos húmicos presentes na água bruta com o cloro, cuja produção se intensifica na rede de distribuição, devido ao maior tempo de contacto.

SANCHEZ e col. (1988) avaliaram corpos d´água receptores e efluentes industriais da região do ABC e Barueri da Grande São Paulo usando o teste de Ames. Dos 20 corpos d´água estudados da região do ABC, 20% apresentaram atividade mutagênica frente ao teste de Ames, e para Barueri, dos 6 corpos d´água analisados, 17% apresentaram positividade.

Com relação as análises químicas feitas em amostras de água bruta e correlação com atividade mutagênica, podemos citar alguns trabalhos que ilustram essa relação.

WILLIAMS e col. (1982) analisaram amostras de água de 12 estações de tratamento dos grandes lagos do Canadá, frente ao teste de Ames e obtiveram resultados positivos para 11 das estações testadas. A análise química dos contaminantes não permitiu relacionar a presença de grupos de compostos individuais com a atividade mutagênica detectada. Já o trabalho de **NESTMANN e col.** (1983) mostrou correlação entre alguns compostos detectados e a mutagenicidade observada. Alguns desses compostos mutagênicos já estavam presentes na água bruta e ficaram mais prevalentes após tratamento como por exemplo, benzeno, etilbenzeno, tolueno e

xilenos. Outros compostos foram provavelmente formados durante os processos de tratamento como o 1,2-dicloroetano, 1,2-dicloroetileno, clorofórmio, diclorometano e tetracloroetileno.

Com relação a estudos feitos com efluentes industriais podemos citar por exemplo o trabalho desenvolvido por **RAPPAPORT e col.** em 1979, aonde os autores analisaram os efluentes de 6 plantas de tratamento de esgotos industriais e domésticos da área de São Francisco, EUA, através do teste do Ames (TA98, TA100, TA1537 e TA1535). Três das seis estações de tratamento estudadas apresentaram efluentes mutagênicos pelo menos uma vez e, principalmente, os efluentes secundários e pós-secundários. Com uma exceção, todas as respostas positivas foram para a TA98 e para TA1537 na presença de mistura S9 e das duas cepas a TA98 foi a mais sensível. A atividade máxima observada foi de 210 revertentes/mg de extrato para a TA98 mais S9.

DOUGLAS e col. (1980) estudaram a mutagenicidade de efluentes de indústrias de papel e celulose utilizando o teste de Ames (TA1535, TA100, TA1537, TA1538 e TA98). Os efluentes foram testados primeiramente sem concentração e em seguida concentrados em resina XAD_2. Dos 24 efluentes analisados 12 (50%) apresentaram atividade mutagênica. Em todos os casos a mutagenicidade foi reduzida pela presença de S9, mesmo sem os cofatores necessários para as reações enzimáticas, indicando que essa redução não ocorreu por um processo enzimático. As cepas que mostraram maior sensibilidade foram as TA98 e TA100. Nesses efluentes foram identificados vários compostos e, dentre eles, 3 com atividade mutagênica, o ácido neoabiético, o tetra e o pentacloropropeno, os quais respondem similarmente em relação à presença de S9.

KAMRA e col. (1983) estudaram efluentes de indústria de papel e celulose frente ao teste de Ames (TA98, TA100, TA1535, TA1537 e TA1538). Os efluentes foram positivos para a TA98, TA100 e TA1535 e foi possível observar respostas positivas desde 50 μg de extrato por placa. Outra observação feita pelos autores foi que a presença de S9 reduziu a mutagenicidade, e tanto a adição da mistura S9 sem os cofatores, como a mistura S9 inativada pelo

calor levaram ao mesmo resultado, ou seja, ocorreu a redução da atividade mutagênica. Isto fez com que os autores concluissem que a redução da mutagenicidade foi devida a uma reação não enzimática, podendo ser atribuída a ligações ao acaso de espécies moleculares presentes na amostra com as proteínas da mistura S9.

MCGEORGE e col. (1985) estudaram várias amostras de efluentes industriais de diversas procedências frente aos teste de Ames (TA98, TA100, TA1535, TA1537 e TA1538) e observaram respostas que variaram entre 0,17 a 111 revertentes por mL equivalente de efluente para TA98 e 1,7 a 178 revertentes por mL equivalente para TA100. Os autores concluiram que o teste tem ampla utilização no estudo de efluentes industriais constituindo-se num instrumento de grande valia no monitoramento de amostras ambientais.

A **TABELA 2** resume os principais trabalhos realizados com água bruta, mostrando o local de coleta, o tipo de extração e/ou concentração empregado, o solvente utilizado e o resultados obtidos frente ao teste de Ames.

TABELA 2 - Resultados do teste de Ames e métodos de extração e concentração utilizados por diversos autores na avaliação de mutagenicidade de água bruta.

AUTORES	LOCAL	EXTRAÇÃO/ CONCENTRAÇÃO	SOLVENTE(S)	RESULTADOS DO TESTE DE AMES
PELON e col. (1977)	Rio Mississipi EUA	ne*	ne	+
DUTKA e SWITZER-HOUSE (1978)	Lago Ontario Canada	evaporador rotatório	ne	+
GLATZ e col. (1978)	Várias cidades EUA	XAD_2 e carvão ativado	dietileter	+
NESTMANN e col. (1979)	Rio Otawa Canada	XAD_2	hexano e acetona	+
MARUOKA e YAMANAKA (1980)	Rio, Lago e água subterrânea Japão	líquida/ líquida	dietileter	+
VAN KREIJL e col. (1980)	Rio Rhine Holanda	XAD_4/XAD_8	DMSO	+
GRABOW e col. (1980 e 1981b)	Rio Vaal Africa do Sul	líquida/ líquida	diclorometano	+
FLANAGAN e ALLEN (1981)	Lago Michigan, Rios Calumet e Fox - EUA	XAD_2	dietileter e metanol	+
GRIMM-KIBALO e col. (1981)	Reserv. DeMoines EUA	XAD_4	dietileter e metanol	+
DE MARINI e col. (1982)	Lago Bloomington EUA	XAD_2	acetona	+
MARTINS e col. (1982)	Rios da Grande São Paulo	evapor. rotat. e membr. filt.	ne	+
MARUOKA e YAMANAKA (1982)	Rio Katsura Japão	XAD_2	dietileter	+
FORSTER (1984)	Reservatórios Inglaterra	liofilização e ultrason.	metanol	+
KOOL e VAN KREIJL (1984)	Rio Rhine e Meuse Holanda	XAD_4/XAD_8	DMSO/acetona	+
DOUGLAS e col. (1986)	Grandes Lagos Canada	XAD_2	hexano e acetona	-
LLAGOSTERA e col. (1986)	Rio Llobregat Bélgica	carvão ativado	eter/metanol	-
PAULUSSEN e col. (1986)	Rio Yser Bélgica	XAD_2	acetona e dietileter	+
VARTIAINEN e LLIMATAINEN (1986)	Vários rios Finlandia	líquida/ líquida	diclorometano	+
GUTTMAN-BASS e col. (1987)	Lago Kinnereth Israel	XAD_2	não consta	+
SANCHEZ e col. (1988)	Rios da Grande São Paulo	líquida/ líquida	diclorometano	+
VARGAS e col. (1988)	Rio Caí Rio Grande do Sul	ne	ne	+

* ne não empregado

3. MATERIAL E METODOS

3.1. SELEÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

A área selecionada para estudo foi o sudeste do Estado de São Paulo, que apresenta problemas de poluição de suas águas superficiais principalmente devido ao despejo de efluentes industriais sem tratamento adequado e, do uso abusivo de pesticidas e praguicidas utilizados na agricultura que podem ser carreados pela chuva contaminando os corpos d´água.

Foram escolhidos 13 pontos de coleta, pertencentes a 11 corpos d´água do Estado de São Paulo. Todos os pontos estudados são locais onde a água é utilizada para abastecimento público das cidades vizinhas e, apresentam variado grau de poluição, tanto de origem industrial como doméstica. Alguns pontos considerados não poluidos foram também incluídos. Na **Figura 1** podemos observar o mapa do Estado, com a localização dos pontos estudados.

Cada ponto de coleta foi identificado por um código e a descrição dos pontos e suas características, serão detalhadas a seguir. Além da descrição, foi apresentado o enquadramento de cada ponto no sistema de classificação de águas, segundo CETESB (1989), com base na resolução federal CONAMA 20 de 18/06/86 (**BRASIL**, 1986). Esta resolução classifica as águas doces do território nacional em 5 classes de acordo com o uso preponderante a ser dado a suas águas. Os pontos de coleta estudados pertencem a 3 delas:

. **Especial**: Destinam-se ao abastecimento público sem prévia ou simples desinfecção e à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas.

. **Classe 2**: Destinam-se ao abastecimento doméstico após tratamento convencional, à proteção das comunidades aquáticas, à recreação de contacto primário, à irrigação de hortaliças e plantas frutíferas, e à criação natural ou intensiva (aquicultura) de espécies destinadas à alimentação.

. **Classe 3**: Destinam-se ao abastecimento doméstico após tratamento convencional, à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras, e à dessendentação de animais.

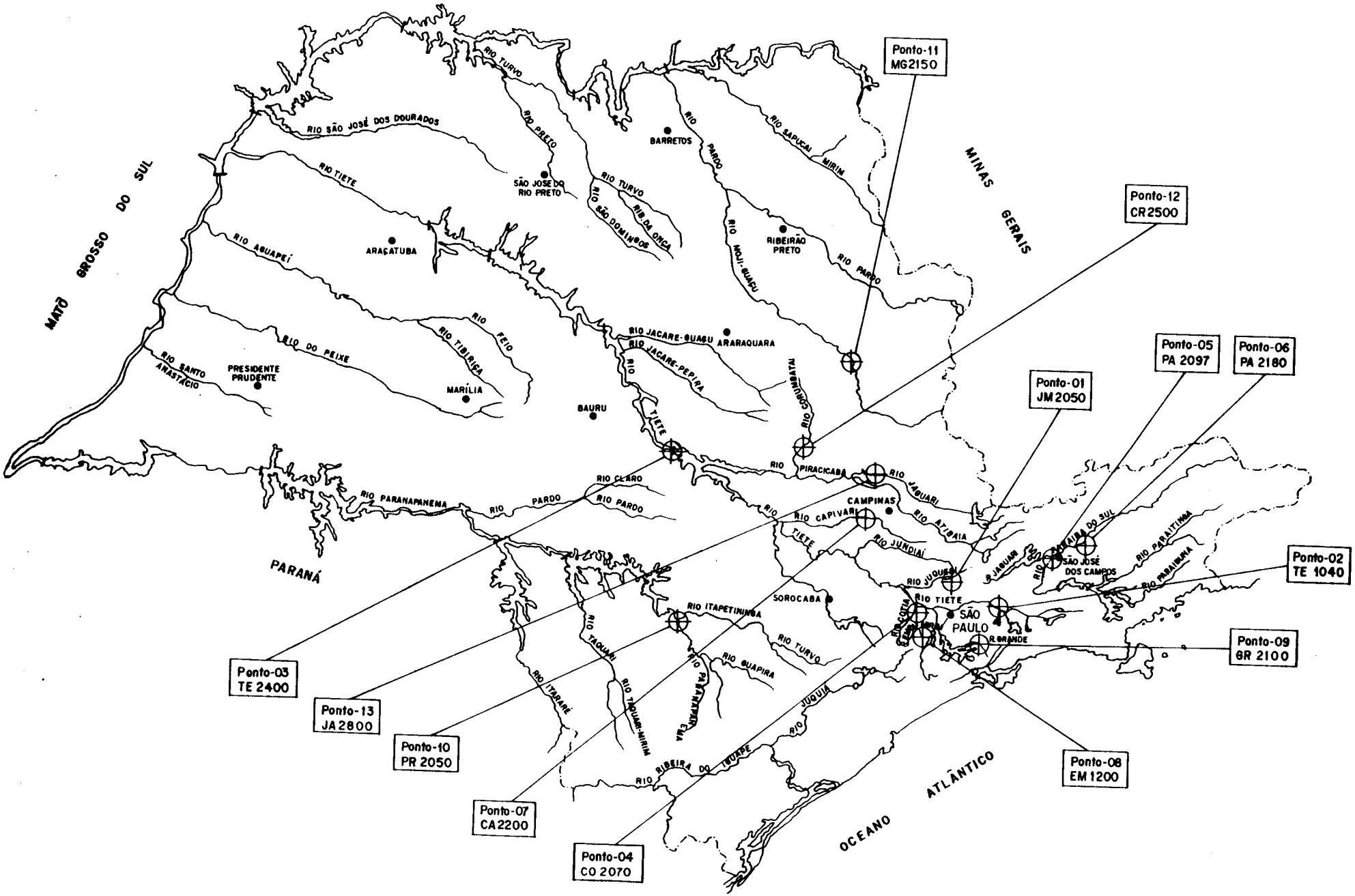


FIGURA 1 - Localização dos pontos de coleta no mapa do Estado de São Paulo.

Ponto 1
Código: JM2050
Local: Represa Juqueri
Classe Especial
Bacia Hidrográfica: Tietê Alto - Zona Metropolitana
Latitude: 23°20'05'' **Longitude**: 46°39'44'' **Altitude**: 750 m
Designação: Ponte Santa Inês sobre o reservatório Paiva Castro na Rodovia que liga Mairiporã a Franco da Rocha na divisa entre seus municípios.
Características: Suas águas abastecem o sistema produtor Cantareira. A represa não sofre influência de nenhuma carga poluidora industrial pois está localizada em região rural, isenta de urbanização.

Ponto 2
Código: TE1040
Local: Rio Tietê
Classe 2
Bacia Hidrográfica: Tietê Alto - Cabeceiras
Latitude: 23°30'47'' **Longitude**: 46°09'56'' **Altitude**: 735 m
Designação: Ponte da Avenida João XXIII (Vila Suiça) em Mogi das Cruzes (Captação de água do SEMAE).
Características: O bairro é altamente industrial e suas águas recebem descargas industriais principalmente do setor granjeiro.

Ponto 3
Código: TE2400
Local: Rio Tietê
Classe 2
Bacia Hidrográfica: Tietê Médio inferior
Latitude: 22°30'24'' **Longitude**: 48°32'49'' **Altitude**: 430 m
Designação: Ponte a jusante da barragem de Barra Bonita, na rodovia entre São Manoel e Jaú no limite de município de Barra Bonita e Igaraçu do Tietê.

Características: A única fonte poluidora é a usina da Barra S/A que lança seus despejos no córrego do Pau D'Alho afluente do rio Tietê a 100 metros a jusante do ponto.

Ponto 4
Código: CO2070
Local: Rio Cotia
Classe 3
Bacia Hidrográfica: Cotia
Latitude: 23°32'16'' **Longitude:** 46°51'46'' **Altitude:** 730 m
Designação: Na entrada do canal de captação de água para a Estação de Tratamento de água (ETA) do Baixo Cotia em São Paulo.
Características: O rio recebe despejos de indústrias alimentícias, de papel e quimicas além dos despejos domésticos da cidade de Cotia.

Ponto 5
Código: PA2097
Local: Rio Paraíba do Sul
Classe 2
Bacia Hidrográfica: Paraíba do Sul
Latitude: 23°11'04'' **Longitude:** 45°55'12'' **Altitude:** 550 m
Designação: Próximo ao local de captação de água que abastece a cidade de São José dos Campos.
Características: O rio recebe despejos provenientes dos esgostos domésticos de Jacareí e industriais de empresas de grande porte como a Papel Simão e a I.C.I.

Ponto 6
Código: PA2180
Local: Rio Paraíba do Sul
Classe 2
Bacia Hidrográfica: Paraíba do Sul
Latitude: 23°04'45'' **Longitude:** 45°42'33'' **Altitude:** 550 m
Designação: Ponte na rua do Porto que liga a cidade de Caçapava ao bairro do Menino Jesus.

Características: As principais fontes poluidoras são os núcleos urbanos e industriais de São José dos Campos com atividades químicas, metalúrgicas, têxtil e alimentícia.

Ponto 7
Código: CA2200
Local: Rio Capivari
Classe 2
Bacia Hidrográfica: Capivari
Latitude: 22°57'29'' **Longitude:** 47°17'48'' **Altitude:** 550 m
Designação: Ponte que liga a cidade de Monte Mor à fazenda Acima. Suas águas são utilizadas para o abastecimento público da cidade de Monte Mor após tratamento.
Características: O rio recebe efluentes urbanos de Louveira e Campinas e através do Ribeirão do Piçarrão recebe despejos industriais de porte como matadouros e indústria metalúrgica.

Ponto 8
Código: EM1200
Local: Rio Embu Mirim
Classe 2
Bacia Hidrográfica: Guarapiranga
Latitude: 23°43'14'' **Longitude:** 46°47'07'' **Altitude:** 730 m
Designação: Na primeira ponte da estrada do M'Boi Mirim (SP214) em São Paulo.
Características: Suas águas alimentam o reservatório de Guarapiranga usado para abastecimento público após tratamento, e recebe despejos industriais e domésticos das cidades de Itapecerica da Serra e Embu.

Ponto 9
Código: GR2100
Local: Rio Grande ou Jurubatuba
Classe 2
Bacia Hidrográfica: Billings
Latitude: 23°44'35'' **Longitude:** 46°24'11'' **Altitude:** 745 m

Designação: Ponte da Av. Santo André (Rodovia SP122) na estrada da cidade de Rio Grande da Serra.
Características: A principal fonte poluidora é a indústria Eletro Cloro S/A e em proporçöes menores despejos da cidade de Rio Grande da Serra onde situa-se uma fábrica de adubos.

Ponto 10
Código: PR2050
Local: Rio Paranapanema
Classe 2
Bacia Hidrográfica: Paranapanema Alto
Latitude: 23°36'12'' **Longitude**: 48°29'15'' **Altitude**: 590 m
Designação: Ponte da estrada que liga Campina do Monte Alegre a Buri na divisa entre municípios de Angatuba e Buri.
Características: As principais fontes poluidoras são os núcleos urbanos da cidade de Itapetininga e a Indústria de Papel Papelok S/A além de pequenas cargas poluidoras como engenho, laticínio e fecularia de milho.

Ponto 11
Código: MG2150
Local: Rio Mogi Guaçu
Classe 2
Bacia Hidrográfica: Mogi Guaçu
Latitude: 21°56'39'' **Longitude**: 47°19'06'' **Altitude**: 535 m
Designação: Captação da Estação de Tratamento de água da Academia de Força aérea de Pirassununga.
Características: O rio recebe os esgotos da cidade de Leme e da cidade de São João da Boa Vista através do rio Jaguari Mirim, e também recebe cargas industriais de fábricas de cola, curtume, alimentos, engenho e indústria têxtil.

Ponto 12
Código: CR2500
Local: Rio Corumbataí
Classe 2
Bacia Hidrográfica: Piracicaba
Latitude: 22°34'50'' **Longitude**: 47°41'00'' **Altitude**: 480 m
Designação: Ponte ao lado da usina de Tamandupa na localidade de Recreio em Piracicaba.
Características: Suas águas recebem cargas poluidoras dos núcleos urbanos e industrias da cidade de Rio Claro e algumas usinas localizadas ao longo do Rio.

Ponto 13
Código: JA2800
Local: Rio Jaguari
Classe 2
Bacia Hidrográfica: Piracicaba
Latitude: 22°40'45'' **Longitude**: 47°16'38'' **Altitude**: 500 m
Designação: No rio Jaguari, 4,5 km a montante da confluência com o Rio Atibaia na localidade denominada Quebra-popa em Americana.
Características: Suas águas são utilizadas no abastecimento público da cidade de Americana após tratamento. As principais fontes poluidoras são os esgotos da cidade de Bragança Paulista, Pedreira, Cosmópolis e grande variedade de indústrias lançam seus efluentes nesse rio, apesar da maioria não estar na zona de influência do ponto de amostragem.

3.2. Amostragem

Foram colhidas e analisadas 75 amostras de corpos receptores quanto a presença de atividade mutagênica. As coletas foram feitas durante um ano, bimestralmente, de outubro de 1987 à agosto de 1988.

As amostras foram colhidas pelo Setor de Operações de Campo (NPAC) e pelas unidades regionais da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB), através das coletas realizadas para a Rede Básica de Monitoramento de Águas Interiores, coordenada pelo Setor de Águas Interiores (NPAI).

As amostras foram instantâneas e colhidas na superfície do corpo d´água em recipiente de aço inoxidável. O volume coletado foi de 12 litros e, acondicionado em frascos de vidro de borossilicato (Pyrex), especialmente lavados segundo **CETESB** (1988a). As amostras, após o transporte, foram mantidas sob refrigeração (4ºC) e processadas dentro do menor prazo possível, normalmente de 24 à 72 horas,(**FEDERAL REGISTER**, 1979).

3.3. Preparo da Amostra

Como os poluentes mutagênicos se encontram diluídos nas águas superficiais, torna-se necessário um processo de extração e concentração, para que as amostras possam ser testadas frente a ensaios microbianos.

A extração de compostos orgânicos presentes na água foi feita através da adsorção em resina amberlite XAD_2 (ROHM and HAAS, Pa, USA). Esta resina é um polímero de caráter hidrofóbico denominado estireno-divinilbenzeno (**DRESSLER**, 1979).

A resina foi lavada antes do seu uso, em soxhlet com metanol por 8 horas, sendo estocada também sob metanol conforme **PELLIZZARI e col.** (1984).

Volumes de 10 ml de resina pré-lavada foram acondicionados em colunas de vidro (buretas de 25 ml) de aproximadamente 1 cm de diâmetro contendo lã de vidro também pré lavada com metanol, na parte inferior da coluna.

Após a lavagem da coluna montada com 150 ml de água destilada, conectou-se frascos contendo 10 litros das amostras

através de tubos de vidro por um sistema de sifonagem. Todas as ligações foram feitas com fita de teflon. A água passou através da coluna num fluxo de aproximadamente 10 ml por minuto.

A eluição foi feita lentamente, com 12 ml de metanol e 200 ml de diclorometano previamente destilado (**PELLIZZARI e col.**, 1984). O eluído foi filtrado em lã de vidro previamente lavada e, para retirada da água remanescente foi adicionado sulfato de sódio anidro.

O filtrado foi concentrado à vácuo em evaporador rotatório a 35°C até 5 ml aproximadamente. O extrato concentrado foi transferido para tubos de ensaio, seco completamente em fluxo de nitrogênio gasoso e, ressuspendido em 10 ml de dimetilsulfóxido (DMSO), de grau espectrométrico (SIGMA).

Controles negativos foram realizados no experimento, utilizando-se água destilada ao invés da amostra, seguindo-se exatamente a mesma metodologia descrita acima.

O fator de concentração do extrato foi de 1000 vezes, de maneira que cada ml de extrato correspondeu a 1 litro de amostra "in natura".

3.4. MEIOS DE CULTURA E SOLUÇÕES

3.4.1 Meios de Cultura

3.4.1.1. Agar Mínimo (AM)

a) Meio de Agar glicose

Bacto agar (DIFCO)	15,0 g
Glicose	20,0 g
Agua destilada	900 ml

Após esterilização o meio foi estabilizado a temperatura de 55 °C em banho maria.

b) Meio de Vogel Bonner "E" (10X)

Sulfato de Magnésio ($MgSO_4.7H_2O$)	2,0 g
Acido cítrico ($C_6H_8O_7.H_2O$)	20,0 g
Fosfato de sódio e amonio ($NaHNH_4PO_4.4H_2O$)	35,0 g
Fosfato de Potássio dibásico (K_2HPO_4)	100,0 g
Agua destilada	1,0 L

Após esterilização o meio foi estabilizado a temperatura de 55 °C em banho maria.

Misturou-se assepticamente 900 ml de meio agar glicose e 100 ml de meio de Vogel Bonner "E" (10X), e distribuiu-se volumes de 25 ml em placas de petri esterilizadas.

3.4.1.2. Caldo Nutriente

Cloreto de sódio (NaCl)(MERCK)	5,0 g
Lab lemco powder (OXOID)	10,0 g
Peptona	10,0 g
Agua destilada	1,0 L

O pH foi ajustado para 7,0 com NaOH 4% ou HCl 1N. Para placas de agar nutriente adiciona-se 15 g de bacto agar por litro.

3.4.1.3. Agar de Superfície ("Top Agar")

Cloreto de Sódio (NaCl)(MERCK)	5,0 g
Bacto agar (DIFCO)	6,0 g
Agua destilada	1,0 L

Após estabilização da temperatura a 55 °C adicionou-se

100 ml de solução de biotina e histidina 0,5 mM a cada litro de meio.

3.4.1.3. Caldo de Soja e Triptona (TSB)

Fosfato de potássio dibásico (K_2HPO_4)	2,5 g
Cloreto de sódio (NaCl)	5,0 g
Glicose	2,5 g
Peptona de soja	3.0 g
Triptona	17,0 g
Agua destilada	1,0 L

O pH foi ajustado para 7,3 ± 1 com NaOH 4% ou HCl 1N.

3.4.2. Soluções

3.4.2.1. Solução de biotina e histidina 0,5 mM.

Dissolveu-se a quente 0,012 g de D-biotina e 0,011 g de L-histidina em 100 ml de água destilada. Após autoclavagem a solução foi estocada em refrigerador.

3.4.2.2. Solução de biotina 0,5 mM.

Dissolveu-se 0,012 g de D-biotina em 100 ml de água destilada. A solução foi estocada em refrigerador após autoclavagem.

3.4.2.3. Solução de histidina 0,5%.

Pesou-se 0,5 g de L-histidina e dissolveu-se a quente em 100 ml de água destilada, após autoclavagem a solução foi estocada em refrigerador.

3.4.2.4. Solução de ampicilina

Pesou-se 0,08g de ampicilina e dissolveu-se em 10 ml de hidróxido de sódio 0,02 N.

A esterilização foi feita por membrana filtrante de 0,22 µm (MILLIPORE) e guardada em refrigerador em frasco escuro.

3.4.2.5. Mistura S9

Cada 100 ml de mistura S9 foi preparada com a seguinte composição:

Fração S9 (ORGANON - USA)	4,0 ml
Solução de cloreto de potássio (KCl) 0,4 M	1,0 ml
Solução de cloreto de magnésio ($MgCl_2$) 1,65 M	1,0 ml
Solução de glicose-6-fosfato 1 M	0,5 ml
Solução de NADP 0,1 M	4,0 ml
Tampão fosfato 0,2 M pH 7,4	50,0 ml
Agua destilada	39,5 ml

Esta solução foi preparada assepticamente e, tanto seus componentes como a mistura final foram mantidos em banho de gelo-água, até sua utilização. Após 3 horas de preparo a mistura não utilizada era descartada.

Para o preparo da mistura S9 utilizou-se as seguintes soluções:

a) Fração S9 (ORGANON TEKNICA CORPORATION - USA)

Preparada a partir de microssomas de células de fígado de rato, induzido previamente com AROCLOR 1254, centrifugada a 9000 g e estocada em freezer à -70°C.

b) Solução de cloreto de potássio 1,65 M

Pesou-se 12,3 g de cloreto de potássio (KCl) e dissolveu-se em 100 ml de água destilada. Após autoclavagem a solução foi mantida em refrigerador.

c) Solução de cloreto de magnésio 0,4 M

Pesou-se 8,13 g de cloreto de magnésio ($MgCl_2$) e dissolveu-se em 100 ml de água destilada. Após autoclavagem a solução foi mantida em refrigerador.

d) Solução de glicose-6-fosfato 1M

Pesou-se 2,821 g de glicose 6 fosfato e dissolveu-se em 10 ml de água destilada. A esterilização foi feita por membrana filtrante 0,22 μm (Millipore) e estocada à -20°C.

e) Solução de NADP 0,1 M

Dissolveu-se 0,7654 g de β-nicotinamida adenina dinucleotídio fosfato (NADP) em 10 ml de água destilada. A esterilização foi feita por membrana filtrante 0,22 µm (MILLIPORE) e estocada à -20°C.

f) Tampão Fosfato 0,2 M

Solução A

Fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4)	2,84 g
Agua destilada	100 ml

Solução B

Fosfato de sódio monobásico (NaH_2PO_4)	2,76 g
Agua destilada	100 ml

Misturou-se 81 ml da solução A e 19 ml da solução B e o pH foi ajustado para 7,4 com a solução A ou com a B. Após autoclavagem a solução foi estocada em refrigerador.

3.4.2.6. Solução de azida sódica

Pesou-se 0,005 g de azida sódica (NaN_3), usando-se luvas cirúrgicas e máscara de proteção contra pós tóxicos, que foi dissolvida em 10 ml de água destilada esterilizada. Após diluição de 1:10, a solução foi estocada a - 20°C e sempre manipulada com cuidados especiais.

3.4.2.7. Solução de 2-acetilaminofluoreno

Pesou-se 0,001 g de 2-acetilaminofluoreno com os mesmos cuidados tomados no preparo da solução acima e dissolveu-se em 10 ml de dimetilsulfóxido. A solução foi estocada a - 20 °C e sempre manipulada com cuidados especiais.

3.4.2.8. Solução de cristal violeta

Foram dissolvidos 0,01 g de cristal violeta em 10 ml de água destilada. A solução foi estocada a temperatura ambiente.

3.4.3. Substâncias adicionadas aos meios de cultura

Substâncias	mg/litro
D-Biotina	0,66
L-Histidina	50,00
Ampicilina	25,20

3.4.4. Esterilização e Incubação

Todos os meios de cultura e soluções utilizadas neste trabalho foram esterilizadas em autoclave a 121°C (1 atm) por 15 minutos a não ser quando especificado no item.

A esterilização da vidraria foi feita em estufa a 180°C por 2 horas.

A incubação das placas foi feita em incubadora regulada a 35°C, por 16 horas aproximadamente ("overnight") a menos quando especificado no item.

3.5. LINHAGENS UTILIZADAS

Os mutantes de Salmonella typhimurium, TA98 e TA100, utilizados neste estudo são derivados da linhagem LT2. Foram especialmente construídas e cedidas pelo Dr. Bruce Ames da Universidade de Berkeley, California.

A cepa TA98 é auxotrófica para histidina, tem uma mutação no gene hisD3052 que codifica para a enzima histidinol desidrogenase. A mutação que ela contêm é do tipo "frameshift -1" e o alvo de reversão é o par C-G. Esta cepa detecta portanto mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura do DNA ("frameshift").

A cepa TA100 é auxotrófica para histidina, tem uma mutação no gene hisG46 que codifica para a primeira enzima da biossíntese da histidina. A mutação que ela contêm é uma substituição no codon CTC (selvagem) para CCC (mutante), sendo portanto o alvo para reversão o par C-G. Esta cepa detecta portanto mutágenos que causam substituição de pares de base no DNA.

Ambas as cepas contêm deleção uvrB, plasmídio pKM101 (Ap^r) e a mutação rfa.

A taxa de reversão espontânea para TA98 é de 25 a 75 revertentes por placa e da TA100 de 75 a 225 revertentes por placa (**MARON E AMES**, 1983).

Todas essas características genéticas foram avaliadas durante o estudo (item 3.6), e só foram utilizadas nos ensaios as colônias que apresentaram as características esperadas para cada cepa.

3.6. PREPARO DA PLACA "MASTER"

As cepas de Salmonella typhimurium foram armazenadas permanentemente em nitrogênio líquido a -196°C, em ampolas com 0,9 ml de cultura e 0,1 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) como agente crioprotetor.

As culturas para uso rotineiro foram mantidas em placas de agar mínimo com biotina, histidina e ampicilina, em geladeira e foram denominadas placas "master".

As placas "master" foram preparadas a cada dois meses e as características genéticas de cada cepa foram previamente avaliadas como descrito abaixo.

Uma aliquota de cultura permanente foi inoculada em 30 ml de caldo nutriente mais ampicilina e, após 16 horas de incubação ("overnight") sob agitação de 150 a 170 rpm, estriou-se a cultura em placas de agar nutriente mais ampicilina. Após incubação, foram escolhidas ao acaso 10 colonias isoladas de cada cepa, e estas, inoculadas em 5 ml de caldo nutriente mais ampicilina, uma a uma.

Após incubação sob agitação, inoculou-se cada cultura na forma de estrias grossas em placas de agar mínimo mais biotina, histidina e ampicilina, e após incubação, as placas foram seladas com parafilme e mantidas sob refrigeração.

Cada cultura crescida nos 5 ml de caldo nutriente foi também inoculada através de cotonetes esterilizados, em placas de agar nutriente para verificação da mutação rfa, presença de plasmídio pKM101 e deleção de uvrB.

3.6.1. Mutação rfa

Colocou-se discos de papel de filtro de 5 mm de diâmetro embebido com 10 µl de solução cristal violeta 1% no centro da placa inoculada. Após incubação, as cepas devem apresentar um halo mínimo de inibição de 14 mm ao redor do disco.

3.6.2. Plasmídio pKM101

Colocou-se um disco de papel de filtro embebido com 10 µl de solução de ampicilina no centro da placa inoculada. Após incubação as cepas deveriam apresentar crescimento ao redor do disco de antibiótico.

3.6.3. Deleção uvrB

Metade de uma placa inoculada foi coberta com cartolina e irradiada com lâmpada germicida (ultravioleta) de 15 watts a uma distância de 33 cm por 8 segundos.

Após incubação, as cepas só deveriam crescer na parte não irradiada (coberta).

3.6.4. Taxa de reversão espontânea

A taxa de reversão espontânea foi avaliada inoculando-se 100 µl de cada cultura em 2 ml de top agar mantido em banho seco a 45°C, e vertendo-se a mistura, após homogeneização, sobre uma placa de agar mínimo. Cada cultura foi inoculada em duplicata.

A taxa de reversão espontânea foi avaliada após 48 horas de incubação e deveria estar dentro da faixa esperada para cada cepa.

Dessas 10 culturas analisadas de cada cepa foram escolhidas duas com as características adequadas e delas, foram preparadas culturas permanentes. As placas "master" correspondentes usadas como inóculo durante os ensaios.

3.7. PROCEDIMENTO DO ENSAIO

As culturas das cepas TA98 e TA100 foram inoculadas com alça de platina em 30 ml de caldo nutriente, utilizando-se as placas "master" como fonte de inóculo. Após crescimento, as culturas foram mantidas sob refrigeração até o momento do teste.

Aos tubos de ensaio, contendo 2 ml de agar de superfície ("top agar"), previamente fundido e mantido à 45°C em banho seco, foram adicionados volumes de 200, 100, 50 e 25 µl da amostra, 100 µl de cultura de cada cepa e para o ensaio na presença de ativação metabólica, 500 µl da mistura S9. Após homogenização em agitador tipo "vortex", o conteúdo do tubo foi vertido em placas de agar mínimo (Ver esquema na Figura 2).

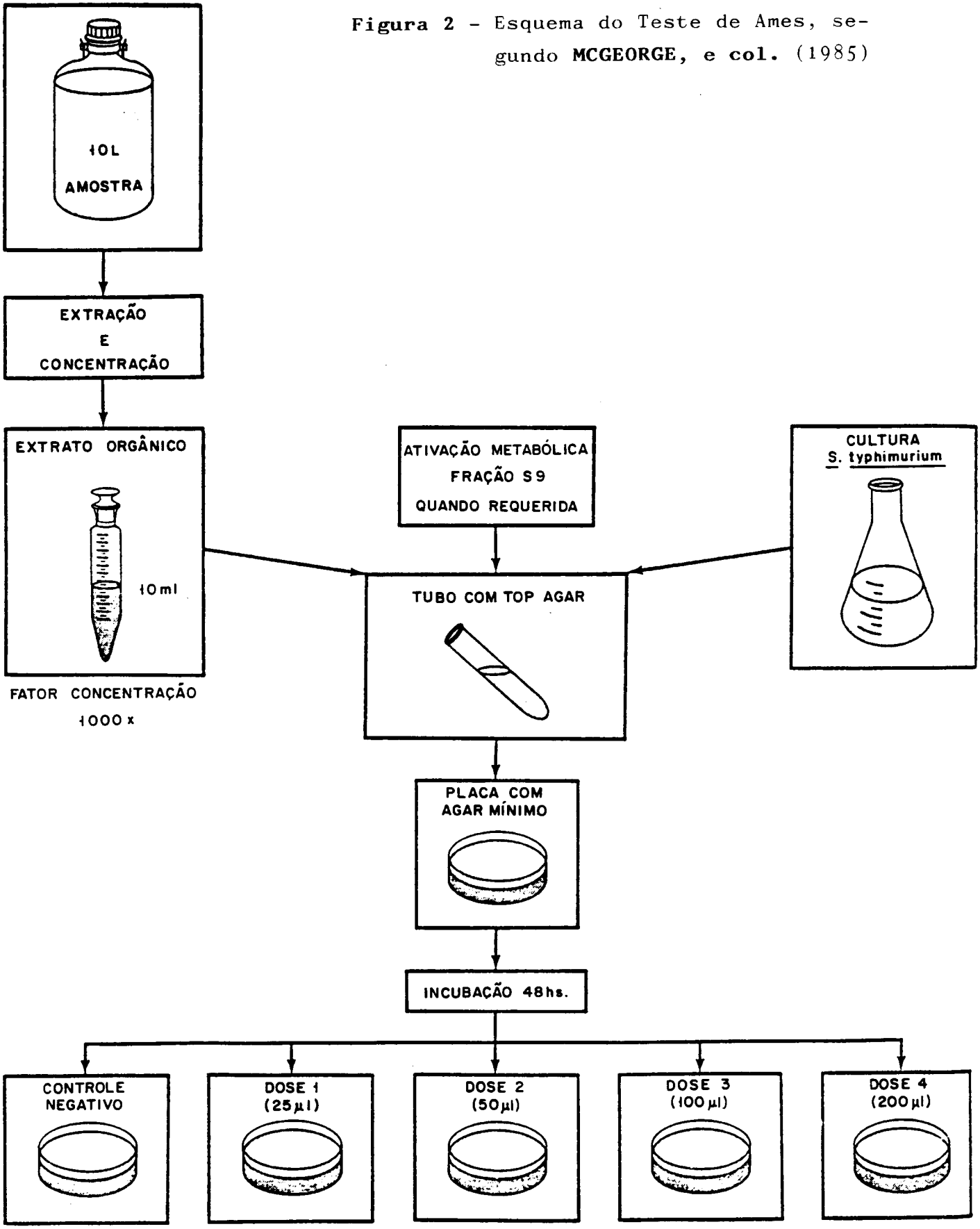
Os testes foram feitos em triplicata após incubação de 72 horas (para as campanhas de outubro e dezembro) e 48 horas (para as campanhas restantes).

O número de revertentes por placa foi então avaliado utilizando-se um contador automático de colônias Biotran II (New Brunswick, USA).

Paralelamente a cada ensaio foi feito o controle negativo, inoculando-se 200 µl do extrato de água destilada, preparado conforme item 3.3, também em triplicata.

Também foi feito o controle positivo do ensaio utilizando-se substâncias conhecidas como mutagênicas, 2-acetilaminofluoreno (2AAF) na concentração de 5 a 10 µg por placa para a cepa TA98 com S9 e azida sódica na concentração de 2,5 a 5 µg por placa para a cepa TA100 sem S9.

Figura 2 - Esquema do Teste de Ames, segundo **MCGEORGE, e col.** (1985)



3.8. INTERPRETAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

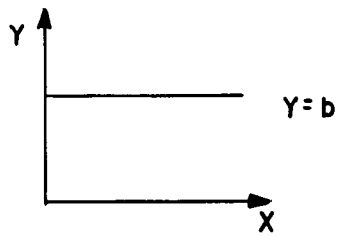
O número de revertentes por placa de uma determinada cultura do teste de Ames quando ensaiada com o controle negativo, é a taxa de reversão espontânea esperada nas condições do ensaio. Ao tratarmos essa mesma cultura com doses crescentes de um agente ou mistura de compostos com atividade mutagênica, o número de revertentes por placa aumenta, proporcionalmente ao aumento das doses de exposição, até um platô, aonde as doses aplicadas são letais para as células por causarem excesso de danos ao DNA ou, pela ação de outros compostos tóxicos presentes na amostra.

Espera-se portanto uma relação dose resposta entre o número de revertentes por placa e as doses de uma amostra com atividade mutagênica. Obviamente, como a amostra utilizada nos experimentos é uma mistura complexa, poderá conter além de mutágenos, compostos que sejam tóxicos por outras vias, comprometendo em alguns casos a linearidade dessa relação.

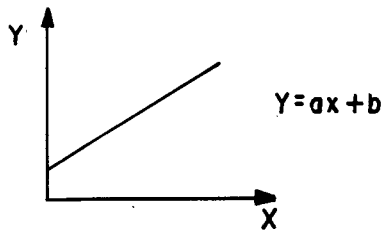
Essa relação dose resposta foi estudada estatisticamente por **MYERS** (comunicação pessoal) e pode ser enquadrada em pelo menos 4 modelos:

MODELOS

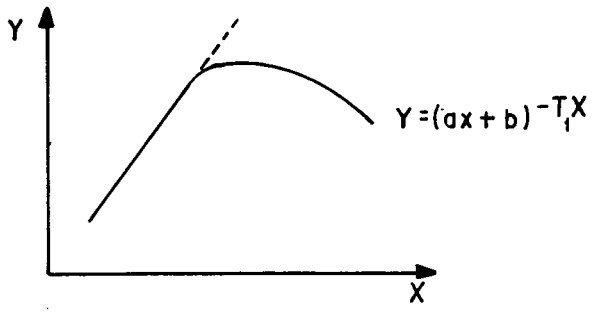
I) Constante



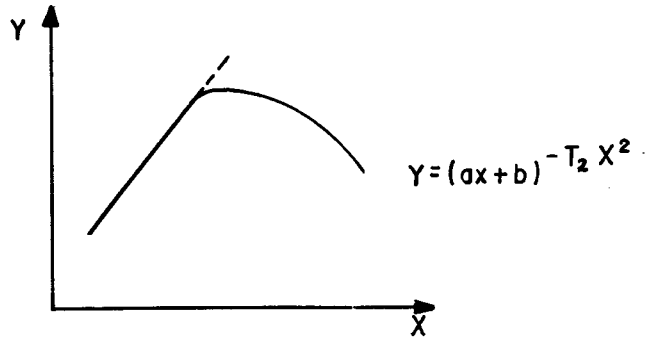
II) Linear simples



III) Lintox1 (Linear atenuado por toxicidade exponencial simples)



IV) Lintox2 (Linear atenuado por toxicidade exponencial a segunda potência)



Aonde:

(X) representa as doses testadas

(Y) representa a média do número de revertentes por placa

Os modelos II, III e IV indicam que há atividade mutagênica na amostra. O modelo I, indica amostra negativa.

Os resultados dos ensaios realizados neste trabalho foram expressos em número de revertentes por ml ou litro de água "in natura" analisado. Para o cálculo deste valor, utilizou-se a parte linear da curva dose resposta obtida para cada cepa em cada ensaio.

Também foi calculada a razão de mutagenicidade (RM) para cada dose analisada, que é a média do número de revertentes na placa teste (espontâneos e induzidos) dividido pela média do número de revertentes por placa do controle negativo (espontâneos).

Considerou-se uma amostra como positiva quando a razão de mutagenicidade (RM) foi maior ou igual a 2 em pelo menos uma das doses ensaiadas e houve efeito dose resposta, isto é, os dados se enquadraram ou no modelo II, III ou IV. Quando o RM não atingiu valor 2,0 mas a amostra apresentou relação linear (modelo II) entre as doses e o número de revertentes por placa, ou vice versa, considerou-se que a amostra apresentou indícios de mutagenicidade. Este critério é similar ao utilizado por **MCGEORGE e col.** (1985).

Para as análises de variância e ajuste dos dados aos modelos, utilizou-se o programa denominado **SALMONEL**, elaborado por **MYERS** e por ele também gentilmente cedido.

O programa se baseia no seguinte fluxograma (**figura 3**):

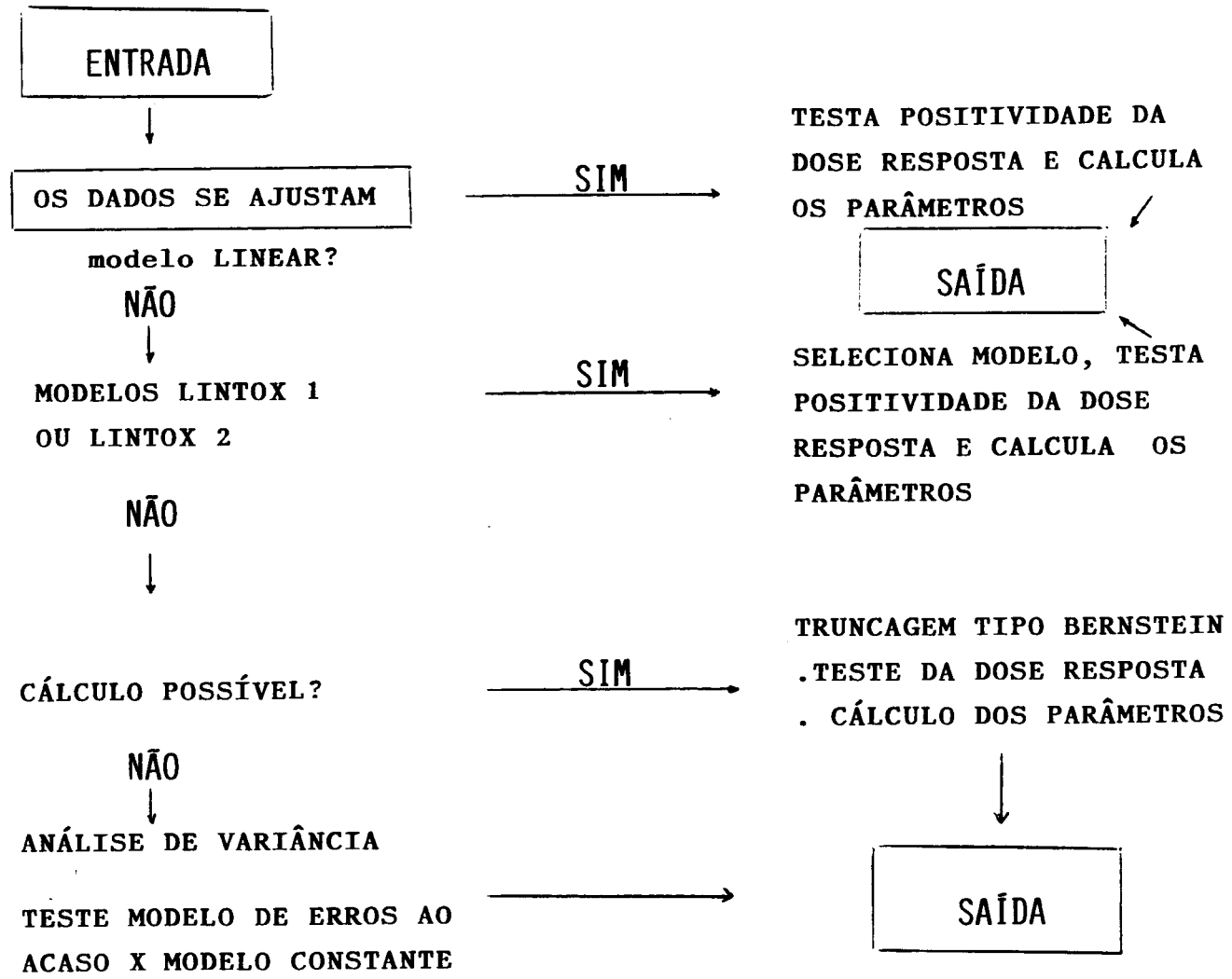


Figura 3 - Fluxograma de análises dos dados do Teste de Ames de acordo com o programa Salmonel.

Quando nenhum destes modelos adaptou-se aos dados, o programa ainda utiliza um recurso que é uma variação do modelo linear, denominado truncagem tipo Bernstein (**BERNSTEIN e col., 1982**), que consiste na retirada de uma ou mais doses da análise usando somente os resultados que se encaixam no modelo linear. Convém ressaltar que os resultados obtidos dessa maneira devem ser encarados com muito cuidado.

Observando-se a saída do programa podemos verificar os resultados das análises estatísticas expressos em probabilidade (P) ou (p):

a) Para **ANOVA** (análise de variânica - teste F) - Valores de (P) menores ou iguais a 5% indicam diferença significativa entre as médias do número de revertentes nas diferentes doses testadas.

b) Para o **MODELO MAIS ACEITAVEL** - Valor de (p) indica a probabilidade de ajuste ao modelo mais adequado. Para os casos onde o programa não encontra nenhum modelo aceitável (isto é todos os modelos apresentam (p) < 5%), o programa só imprime o resultado da análise de variância.

c) Para o teste de **POSITIVIDADE DA DOSE RESPOSTA** - Valores de (P) menores ou iguais a 5% indicam que há inclinação positiva na origem da curva calculada.

O programa também calcula alguns **parâmetros**, como a **inclinação da reta** da parte linear da curva dose resposta. Esse valor corresponde ao número de revertentes induzidos por ml de água analisado. Outros parâmetros que são apresentados em seguida são o erro padrão e o intervalo de confiança (80%).

Devemos ressaltar porém, que esses parâmetros somente são levados em consideração quando existe diferença entre as médias do número de revertentes nas diferentes doses testadas (P menor ou igual a 5%), e quando há inclinação positiva na origem da curva dose resposta (P menor ou igual a 5%).

4. RESULTADOS

4.1. RESULTADOS DO TESTE DE AMES PARA CADA CORPO D'ÁGUA ESTUDADO.

REPRESA JUQUERI

PONTO 1 - JM2050

As águas da Represa Juqueri não apresentaram mutagenicidade em nenhuma amostra analisada durante o período de Outubro de 1987 a Agosto de 1988. Os resultados estão agrupados na Tabela A1 do Apêndice.

RIO TIETÊ

PONTO 2 - TE1040

A amostra do Rio Tietê - TE1040 do mês de abril de 1988 apresentou indícios de mutagenicidade com a cepa TA98 na ausência de mistura S9 e positividade na presença de S9, indicando portanto a presença de mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura cuja ação foi aumentada após metabolização pela mistura S9. Ou estariam presentes tanto mutágenos diretos, como outros indiretos que foram ativados pelo S9. As amostras dos demais meses não apresentaram atividade mutagênica. Os resultados obtidos no teste de Ames estão reunidos na tabela A2 do Apêndice e resumidos na figura 4.

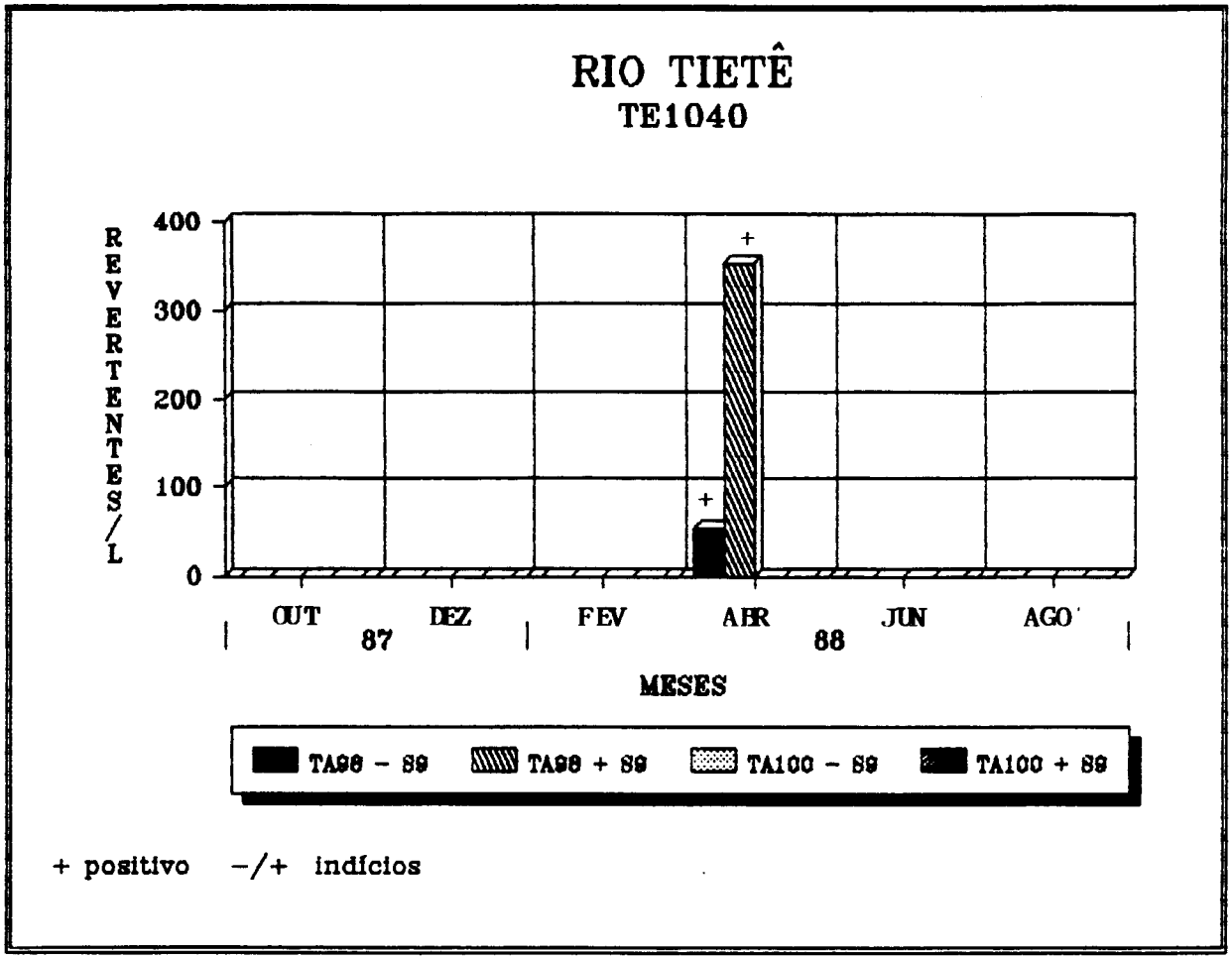


Figura 4 - Resultados do Teste de Ames para o Rio Tietê - TE1040.

PONTO 3 - TE 2400

A amostra do Rio Tiete - TE2400 do mês de fevereiro de 1987 apresentou atividade mutagênica frente a cepa TA98 na ausência de S9 porém na presença de S9 a mutagenicidade não foi mais detectada sugerindo que houve inativação dos mutágenos presentes. Os mutágenos detectados no mês de fevereiro causam deslocamento do quadro de leitura. A amostra do mês de junho apresentou indícios de mutagenicidade com a cepa TA100 somente na presença de mistura S9, indicando a presença de mutágenos indiretos que causam substituição de pares de bases.

As amostras dos meses restantes não apresentaram atividade mutagênica. Os resultados do teste de Ames estão na tabela A3 do Apêndice e foram resumidos na figura 5.

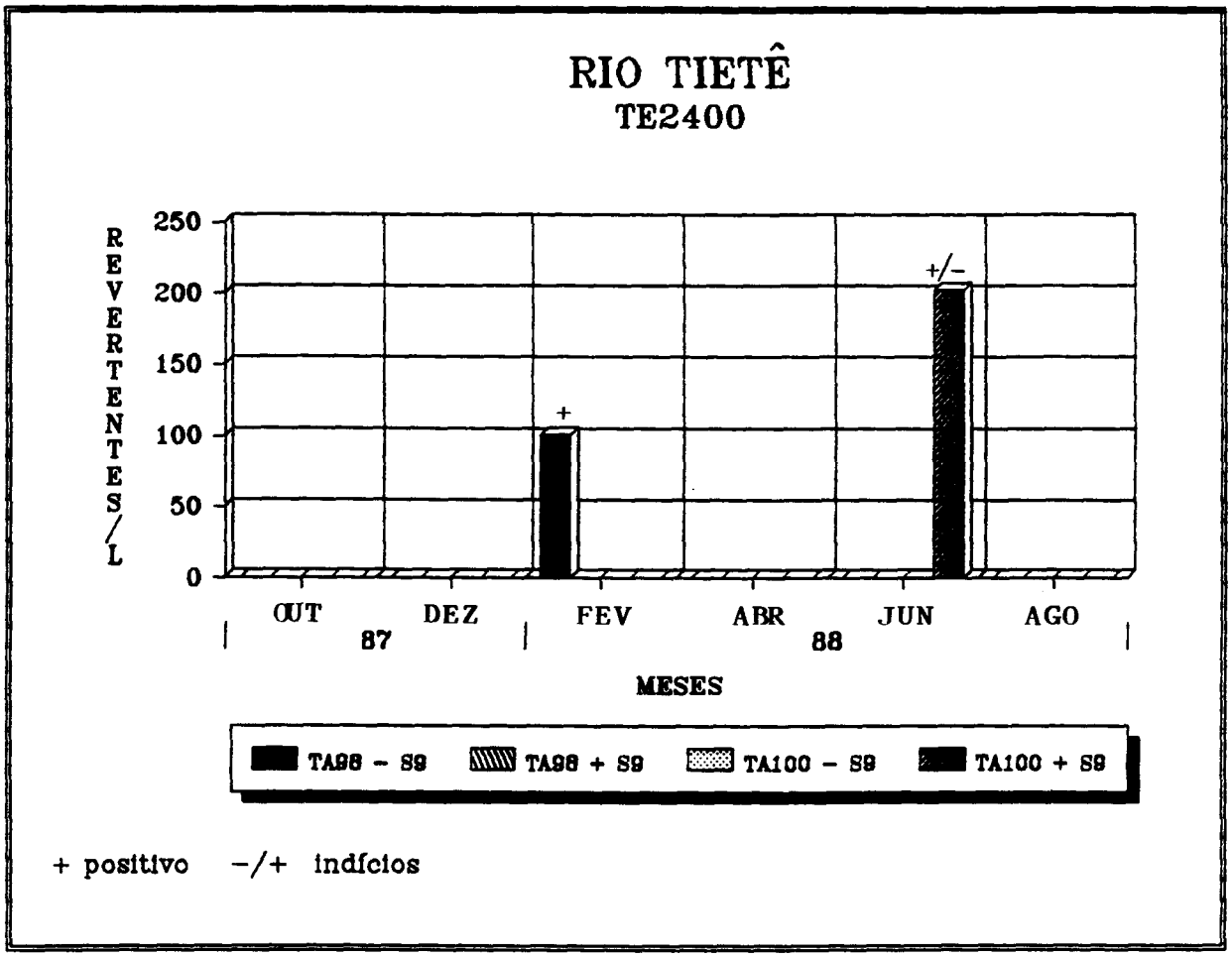


Figura 5 - Resultados do teste de Ames para o Rio Tietê - TE2400.

RIO COTIA

PONTO 4 - CO2070

A amostra do Rio Cotia do mês de agosto de 1988 apresentou indícios de mutagenicidade somente na ausência da mistura S9 com a cepa TA98 sugerindo a presença de mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura e que são inativados pelo sistema microssomal. As amostras dos demais meses não apresentaram mutagenicidade. Os resultados se encontram na tabela A4 do Apêndice e estão resumidos na figura 6.

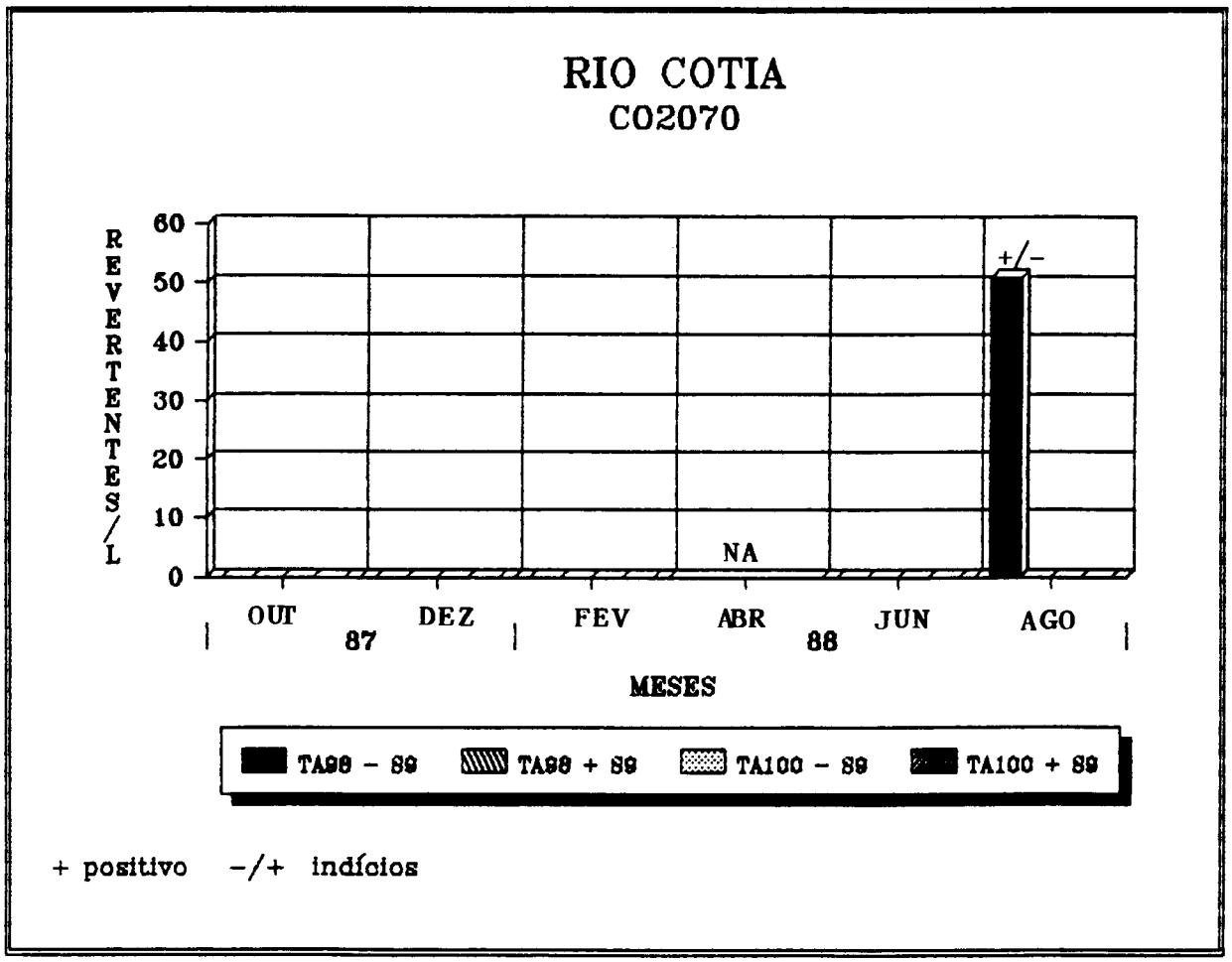


Figura 6 - Resultados do teste de Ames para o Rio Cotia - CO2070.

RIO PARAÍBA DO SUL

PONTO 5 - PA2097

Todas as amostras analisadas do Rio Paraíba do Sul no ponto PA2097 apresentaram atividade mutagênica com excessão do mês de agosto de 1988. A amostra de outubro apresentou atividade mutagênica frente a cepa TA98 na presença e ausência de S9, indicando portanto a presença de mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura cuja ação foi ligeiramente aumentada pela presença do sistema de metabolização ou outros mutágenos indiretos presentes que foram ativados pelo S9. Esta amostra também apresentou indícios de mutagenicidade frente a cepa TA100 somente na presença de mistura S9, indicando a presença de mutágenos indiretos que causam substituição de pares de bases. A amostra do mês de dezembro apresentou indícios de mutagenicidade somente na ausência de mistura S9, tanto com a cepa TA98 como TA100, indicando a presença de mutágenos que podem causar tanto deslocamento do quadro de leitura como substituição de pares de bases, ou então diferentes mutágenos estariam presentes, cada um causando um dos tipos de mutação. Neste caso a mistura S9 inativou os mutágenos presentes.

A amostra do mês de Abril apresentou atividade mutagênica frente a cepa TA98 e indícios de mutagenicidade com a TA100, somente na presença de mistura S9, indicando a presença de mutágenos indiretos cujo mecanismo de ação poderia ser explicado pela mesma hipótese levantada para a amostra do mês de dezembro.

A amostra do mês de junho apresentou mutagenicidade frente a cepa TA98 na presença de mistura S9, indicando a presença de mutágenos indiretos que causam deslocamento do quadro de leitura.

Todos os resultados do teste de Ames estão na Tabela A5 do Apêndice e resumidos na Figura 7.

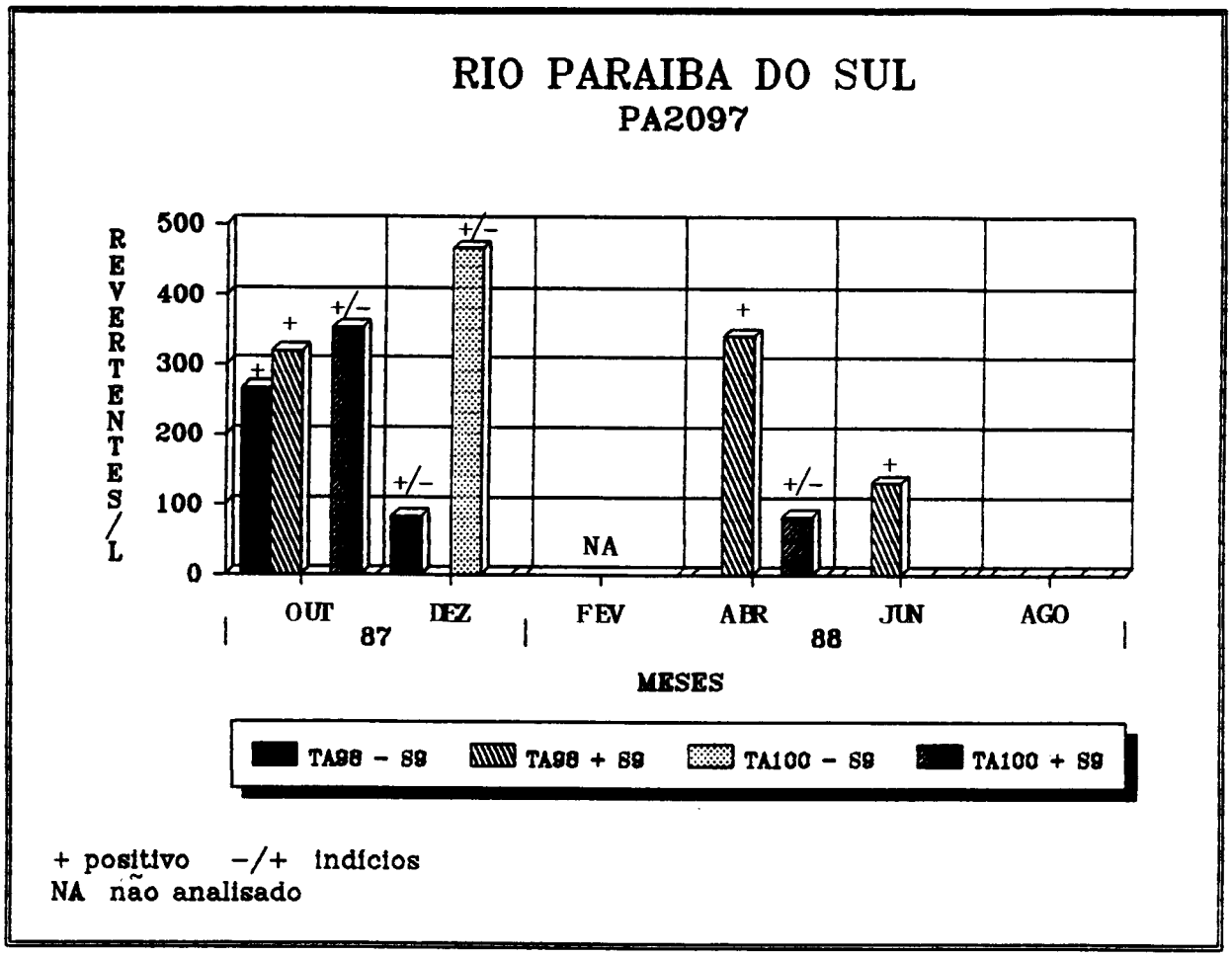


Figura 7 - Resultados do teste de Ames para o Rio Paraíba do Sul - PA2097.

PONTO 6 - PA2180

A amostra do rio Paraíba do Sul no PA2180 do mês de outubro de 1987 apresentou indícios de mutagenicidade para a cepa TA100 somente na presença de mistura S9 indicando a presença de mutágenos indiretos que causam substituição de pares de bases.

A amostra do mês de dezembro apresentou mutagenicidade para a cepa TA98 somente na ausência de mistura S9, indicando a presença de mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura e que são inativados pelo sistema de metabolização.

A amostra do mês de Junho apresentou indícios de

mutagenicidade frente a cepa TA98 na ausência de mistura S9 e positividade na presença de mistura S9, indicando a presença de mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura cuja ação foi aumentada na presença do S9 ou outros mutágenos indiretos estavam presentes e foram ativados pelo S9.

As amostras dos demais meses (Fevereiro, Abril e Agosto não apresentaram mutagenicidade. Os resultados dos ensaios estão na tabela A6 do Apêndice e resumidos na figura 8.

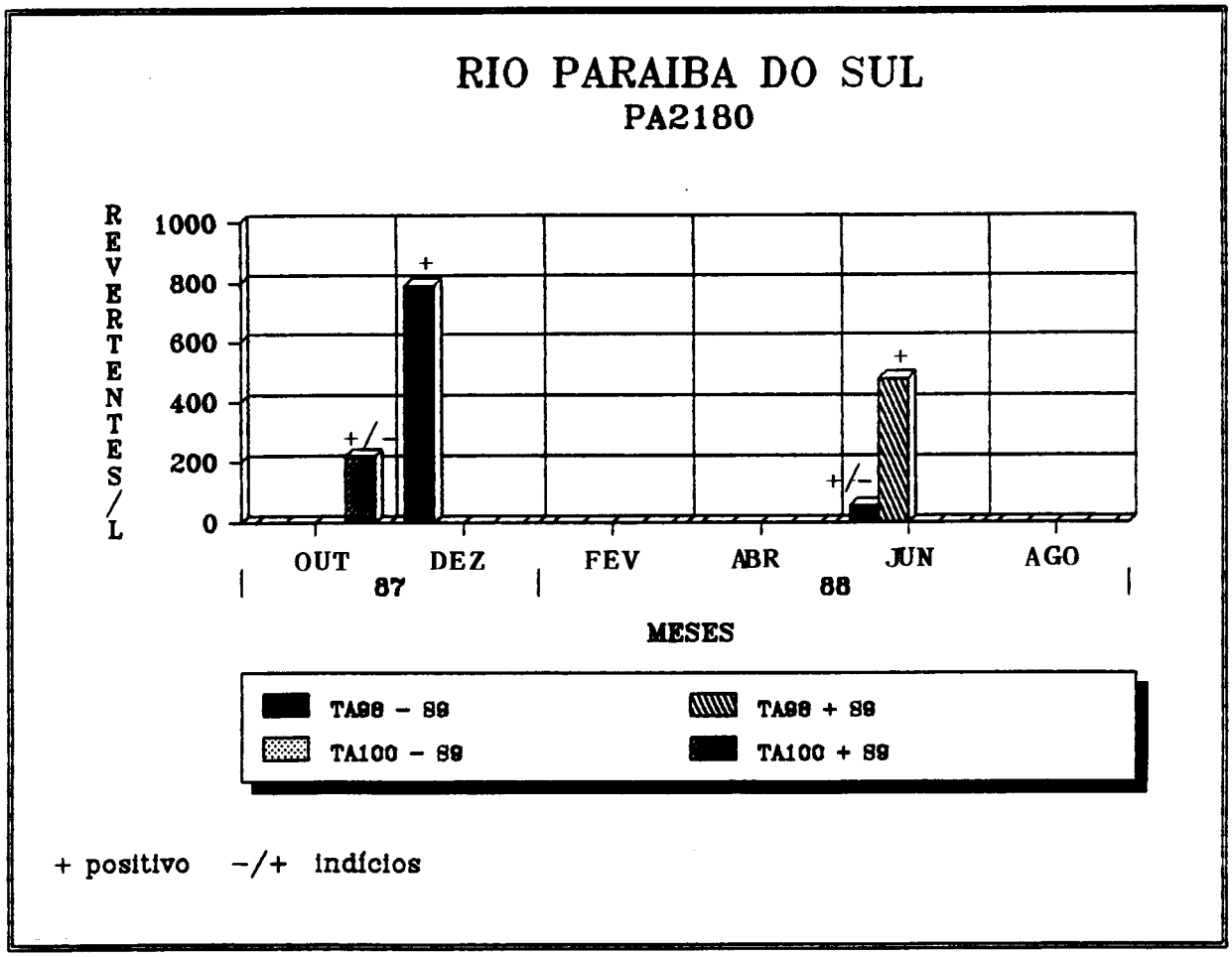


Figura 8 - Resultados do teste de Ames para o Rio Paraíba do Sul - PA2180.

RIO CAPIVARI

PONTO 7 - CA2200

A amostra do Rio Capivari do mês de dezembro de 1987 apresentou atividade mutagênica frente a cepa TA98 na ausência de mistura S9, tendo sido essa atividade intensificada pelo sistema microssomal, ou então estavam presentes outros mutágenos com ação indireta. Tanto no mês de fevereiro como no mês de abril foram detectados indícios de mutagenicidade com a cepa TA98 somente na ausência de mistura S9, indicando a presença de mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura e que foram inativados pela mistura S9. As demais amostras não apresentaram atividade mutagênica. Os resultados obtidos estão reunidos na tabela A7 do Apêndice e resumidos na Figura 9.

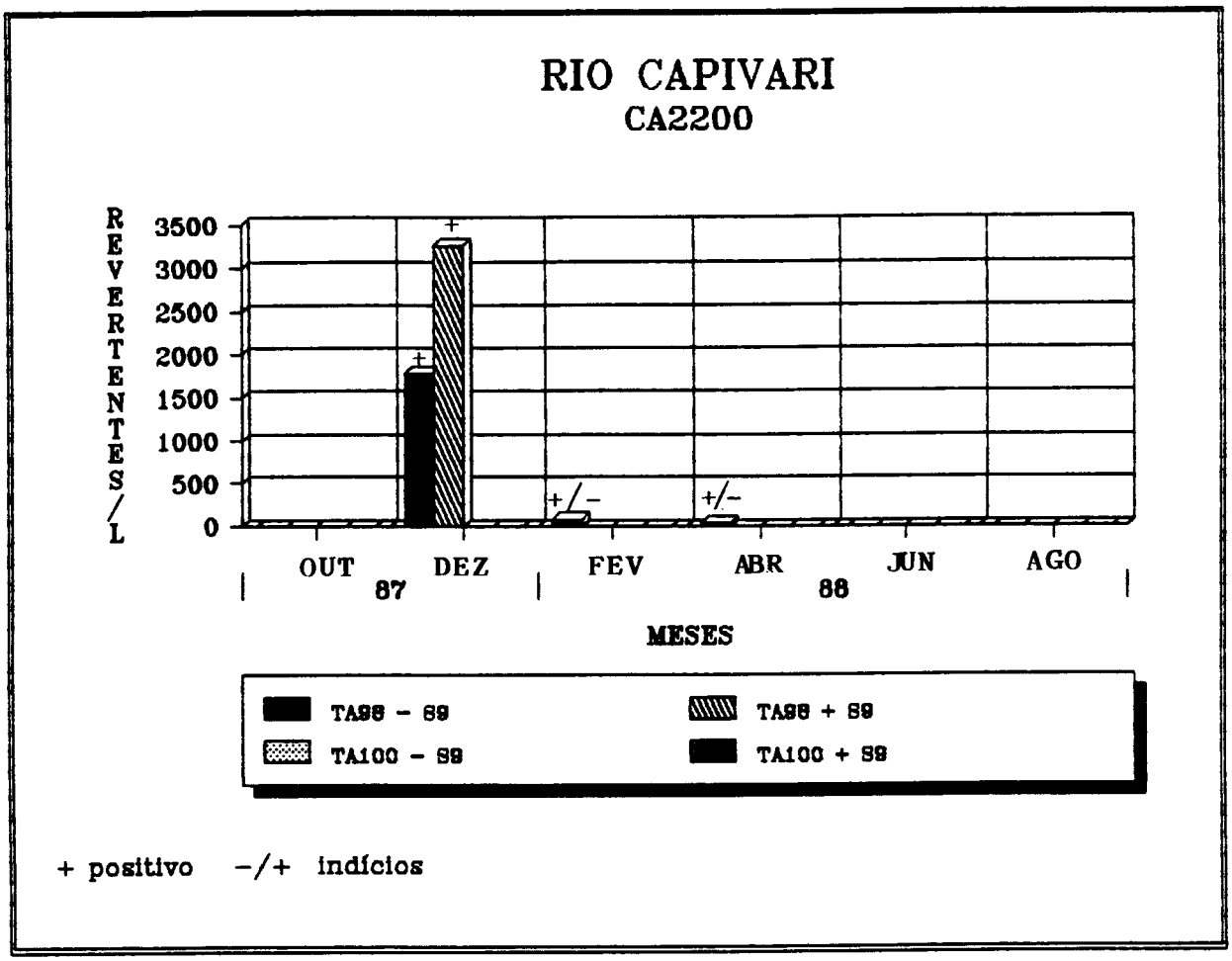


Figura 9 - Resultados do teste de Ames para o Rio Capivari - CA2200

RIO EMBU MIRIM

PONTO 8 - EM1200

Apenas uma das amostras analisadas (mês de fevereiro) do Rio Embu Mirim apresentou atividade mutagênica para a cepa TA98 na presença e ausência da mistura S9. Estão presentes portanto nessa amostra mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura e que são em parte, inativados pela ação do sistema de metabolização tornando-os menos ativos ou estavam presentes alguns mutágenos que foram inativados pelo S9 e outros que não foram. Os resultados do teste de Ames estão reunidos na tabela A8 do Apêndice e resumidos na figura 10.

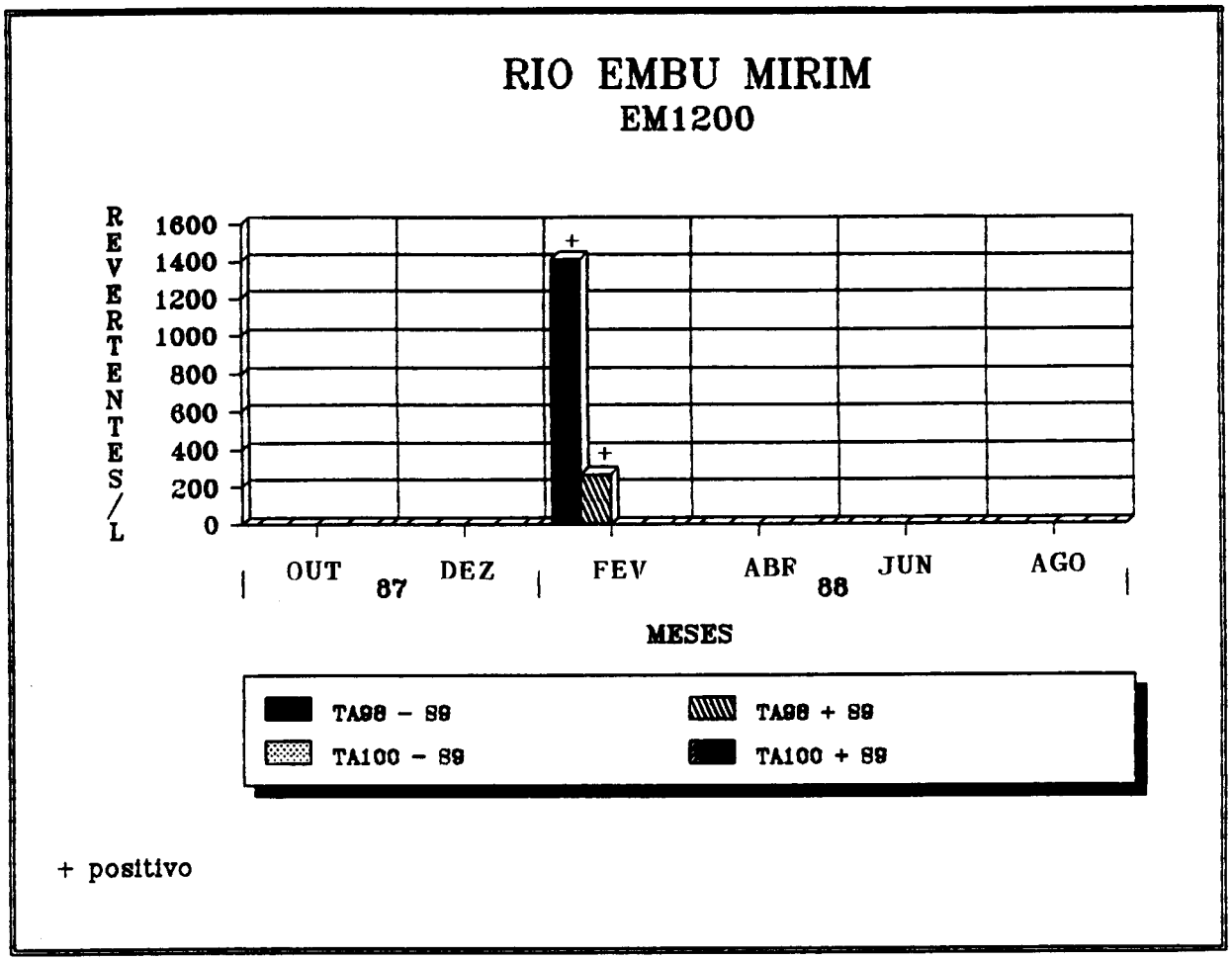


Figura 10 - Resultados do teste de Ames para o Rio Embu Mirim - EM1200.

RIO GRANDE OU JURUBATUBA

PONTO 9 - GR2100

As amostras do Rio Grande ou Jurubatuba não apresentaram mutagenicidade em nenhum dos meses analisados como pode ser observado nos resultados do teste de Ames apresentados na tabela A9 do Apêndice.

RIO PARANAPANEMA

PONTO 10 - PR2050

A amostra do Rio Paranapanema do mês de dezembro apresentou indícios de mutagenicidade tanto com a cepa TA98 como TA100 somente na ausência de S9 revelando a presença de um ou mais mutágenos que causam tanto deslocamento do quadro de leitura como substituição de pares de bases ou são diferentes mutágenos cada um causando um dos tipos de mutação, e que são inativados pela mistura S9.

A amostra do mês de fevereiro apresentou mutagenicidade com a cepa TA98 na ausência da mistura S9 e indícios de mutagenicidade na presença da mesma, indicando inativação parcial dos mutágenos pelo sistema de ativação metabólica, tornado-os menos ativos ou então estavam presentes alguns mutágenos que foram inativados pelo S9 e outros não. Como pode ser observado na tabela A10 do Apêndice e na figura 11 nos demais meses não ocorreram amostras com atividade mutagênica.

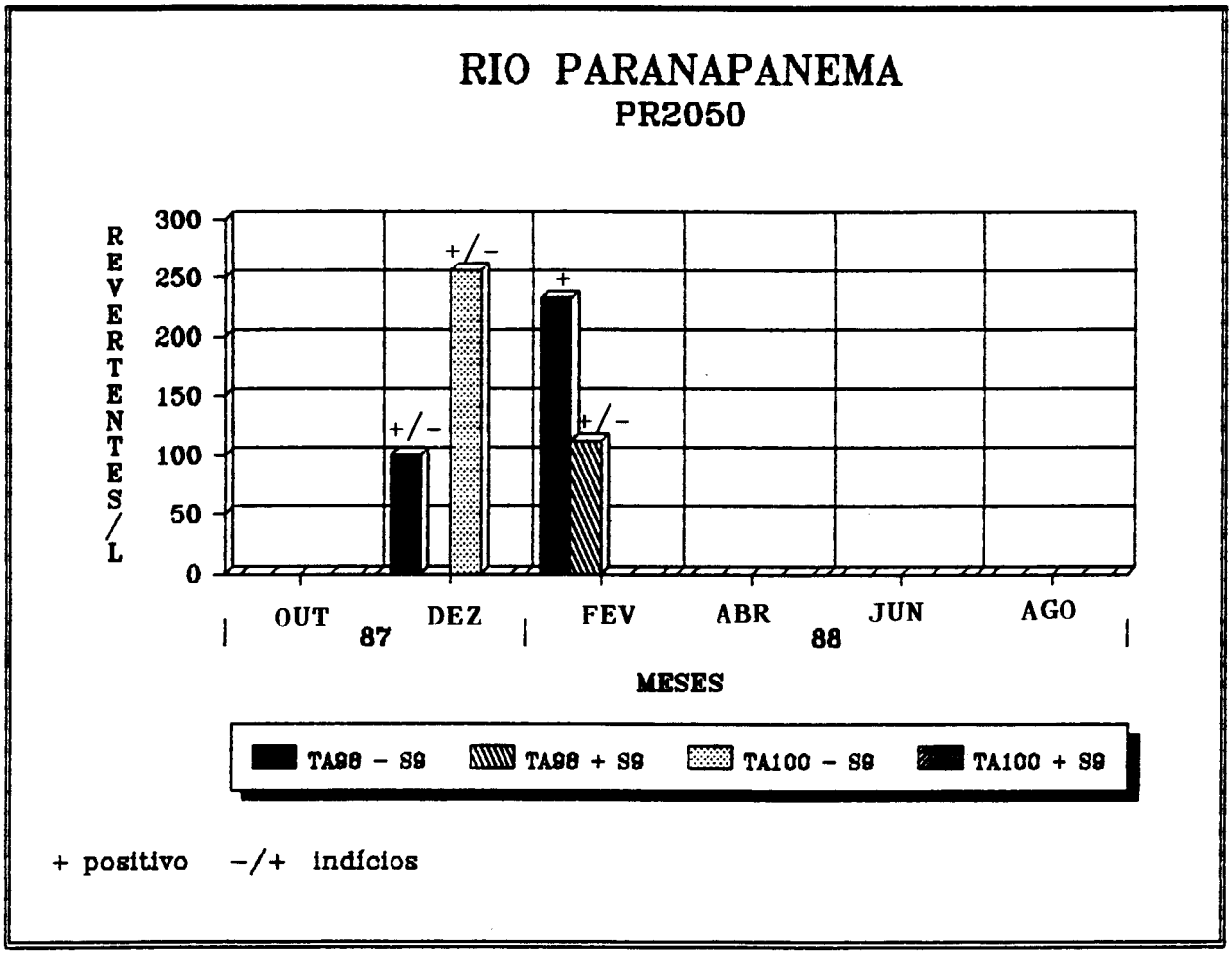


Figura 11 - Resultados do teste de Ames para o Rio Paranapanema - PR2050.

RIO MOGI GUAÇU

PONTO 11 - MG2150

A amostra do mês de dezembro do Rio Mogi Guaçu apresentou mutagenicidade somente na ausência de mistura S9 frente a cepa TA98 indicando a presença de mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura e que são inativados pelo sistema de metabolização. A amostra do mês de fevereiro apresentou-se positiva também para a cepa TA98 indicando a presença de mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura e foram em parte inativados pela mistura S9 tornando-se menos ativos ou então alguns dos mutágenos presentes foram inativados e outros não. Os resultados obtidos no teste de Ames foram apresentados na tabela A11 do Apêndice e figura 12.

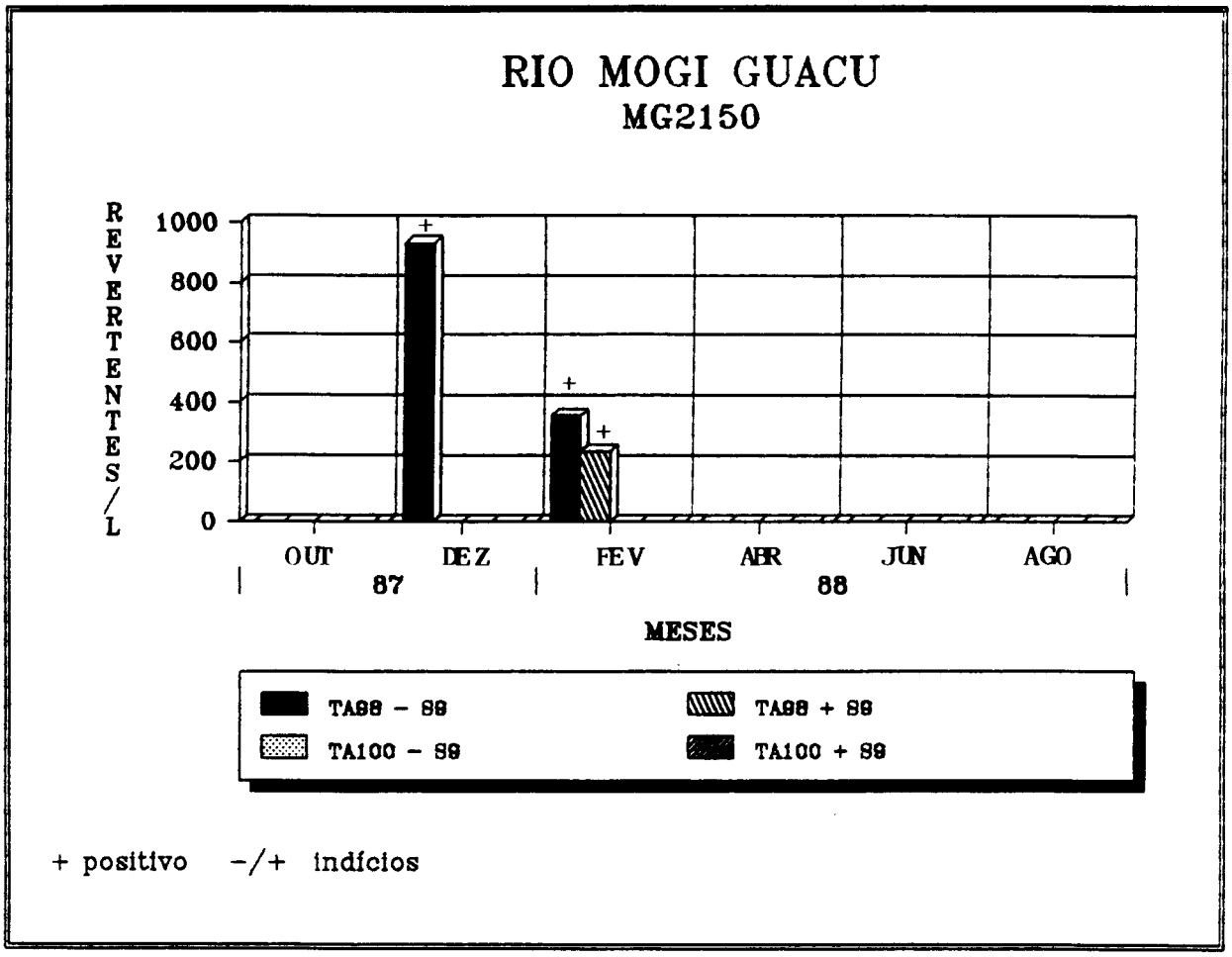


Figura 12 - Resultados do teste de Ames para o Rio Mogi Guaçú - MG2150.

RIO CORUMBATAÍ

PONTO 12 - CR2500

A amostra do mês de fevereiro do Rio Corumbataí apresentou positividade para a cepa TA98 na ausência de mistura S9 e indícios de mutagenicidade na presença de S9, indicando que os mutágenos presentes causam deslocamento do quadro de leitura e que foram parcialmente inativados pelo sistema de metabolização tornando-se menos ativos, ou que ,estavam presentes mutágenos que foram inativados e outros que não foram. A amostra do mês de abril apresentou indícios de mutagenicidade para a cepa TA100 na ausencia de mistura S9 indicando a presença de mutágenos diretos que causam substituição de pares de base. Por não ter sido testada a amostra na presênça de S9, foi impossível avaliar se os mutágenos seriam alterados ou não pela adição do sistema de metabolização.

As demais amostras estudadas não apresentaram atividade mutagênica e os resultados do teste de Ames foram apresentados na tabela A12 do Apêndice e resumidos na figura 13.

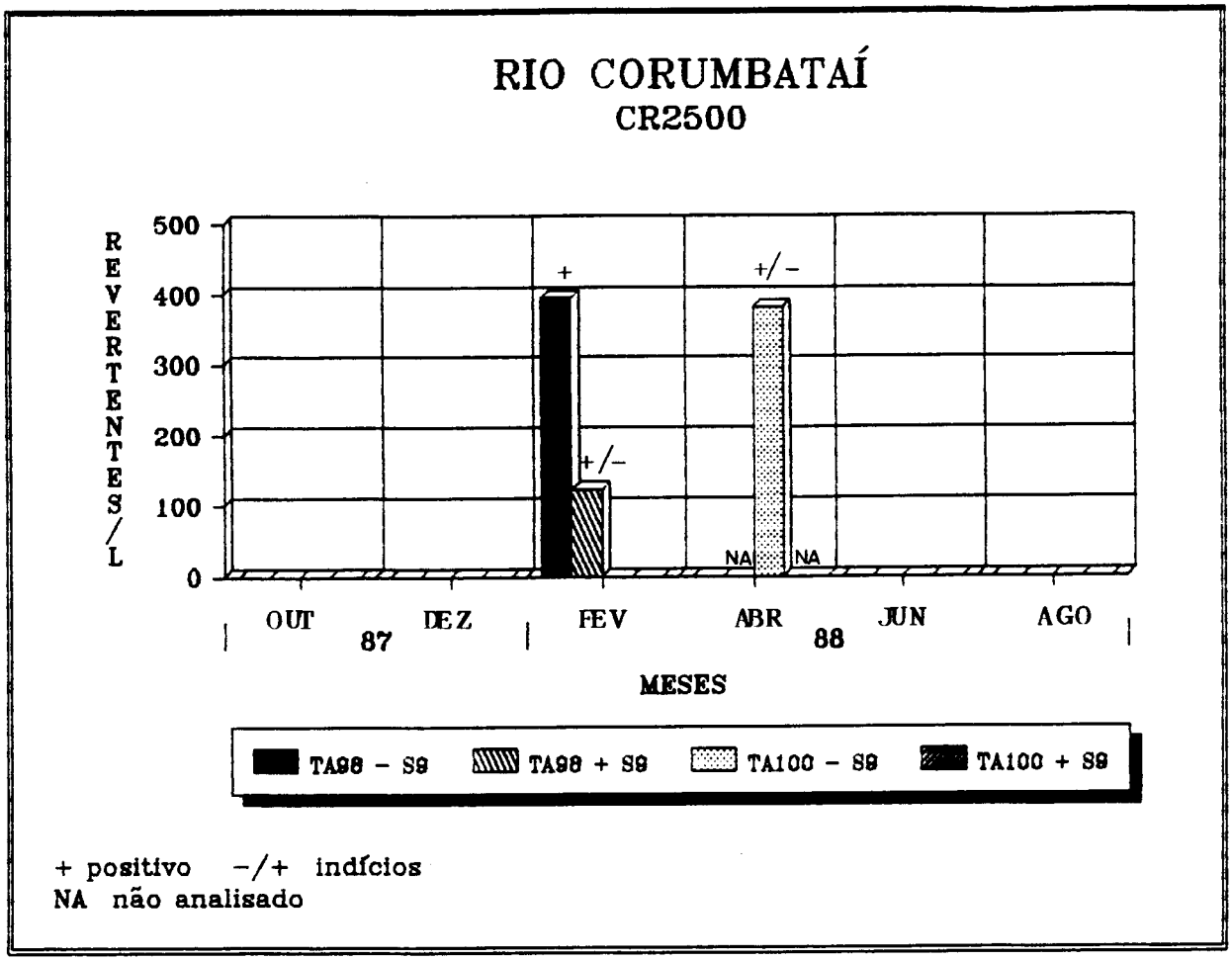


Figura 13 - Resultados do teste de Ames para o Rio Corumbataí - CR2500.

RIO JAGUARI

PONTO 13 - JA2800

A amostra do mês de fevereiro do Rio Jaguari apresentou mutagenicidade frente a cepa TA98 na presença e ausência de mistura S9, indicando a presença de mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura. A mutagenicidade diminuiu quando o sistema de metabolização foi adicionado, indicando que os mutágenos foram parcialmente inativados, tornando-se menos ativos, ou que, estavam presentes mutágenos que foram inativados pelo S9 e outros que não foram. As demais amostras testadas não apresentaram mutagenicidade. Os resultados do Teste de Ames foram apresentados na tabela A13 do Apêndice e resumidos na figura 14.

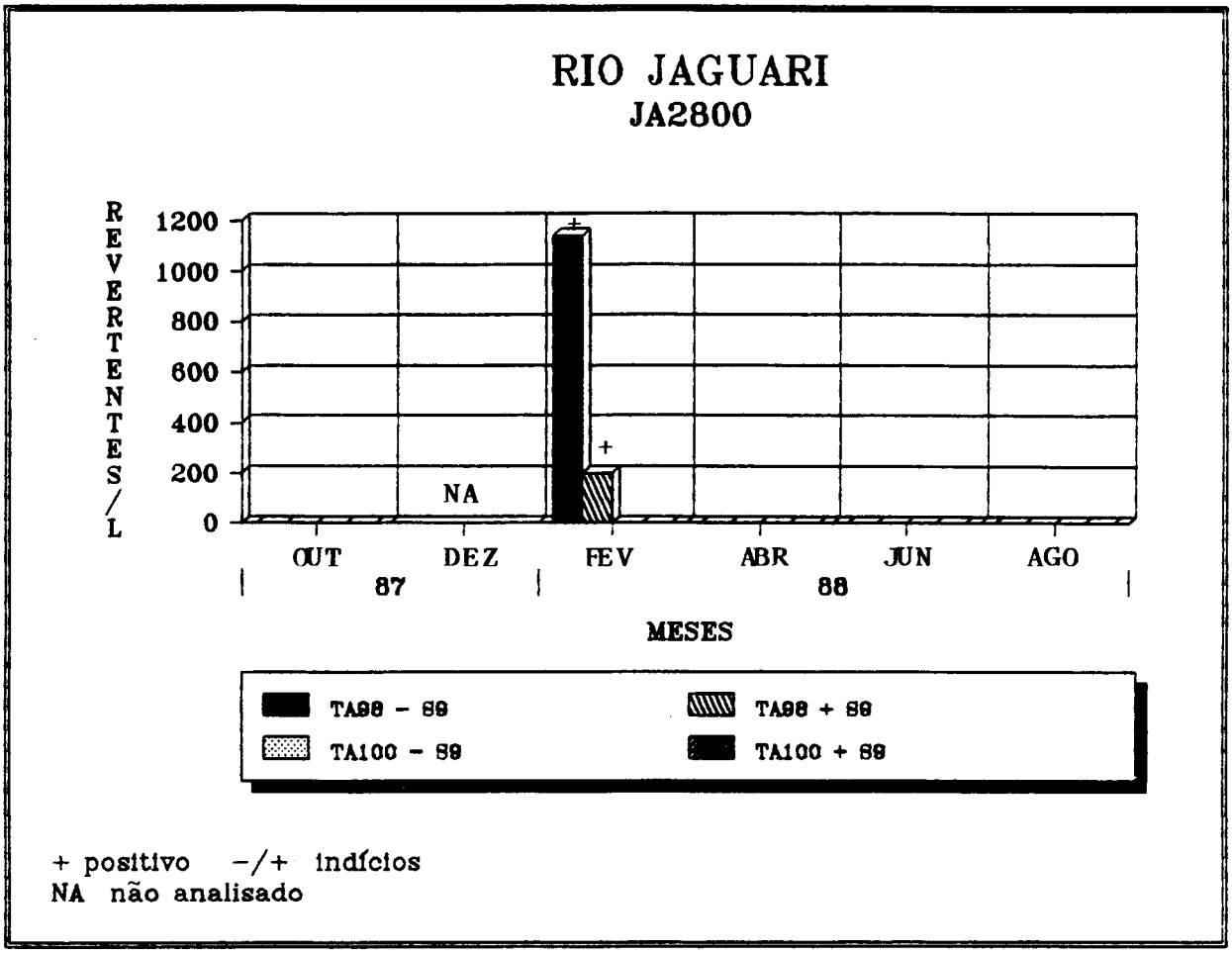


Figura 14 - Resultados do teste de Ames para o Rio Jaguari - JA2800

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

4.2. RESUMO DOS RESULTADOS DO TESTE DE AMES DOS CORPOS D´ÁGUA ESTUDADOS.

Das 75 amostras analisadas 14 (19%) apresentaram positividade e 8 (11%) indícios de mutagenicidade, perfazendo um total de 29% de amostras com atividade mutagênica detectada através do teste de Ames.

A Figura 15 apresenta resumidamente, de maneira qualitativa a mutagenicidade dos diversos corpos d´água estudados.

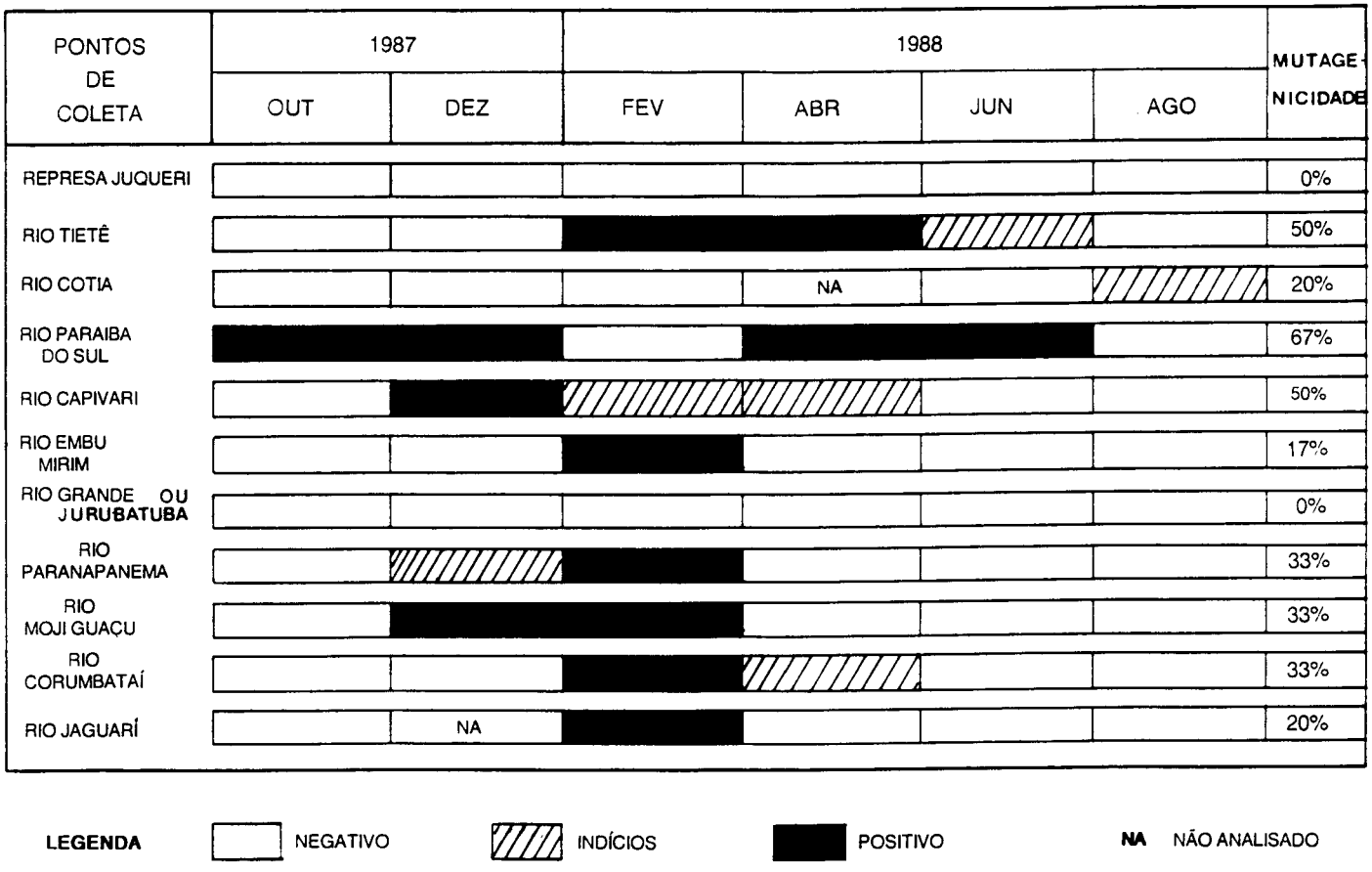


Figura 15 - Resumo dos resultados do Teste de Ames dos corpos d´agua estudados.

O rio que apresentou atividade mutagênica com maior frequência (67%) foi o rio Paraíba do Sul. O rio Tietê e o Rio Capivari vem logo a seguir com 50% de amostras mutagênicas. Os demais rios apresentaram somente uma ou duas amostras com atividade mutagênica como pode ser visto na figura 15 com exceção do rio Grande ou Jurubatuba e da Represa Juqueri, que apresentaram sempre amostras negativas durante o período de estudo.

4.3. DISTRIBUIÇÃO SAZONAL DA MUTAGENICIDADE DETECTADA NOS DIVERSOS CORPOS D'ÁGUA ANALISADOS.

A figura 16 representa a mutagenicidade detectada durante os meses estudados nos diversos pontos de coleta mostrando distribuição bimestral da atividade mutagênica. Podemos observar que no mês de outubro de 1987, no início deste estudo, a porcentagem de amostras com atividade mutagênica foi de 9%, subindo no mês seguinte até atingir 64% no mês de fevereiro, e declinando novamente no mês de agosto para 9%. A figura 16 também mostra como se comportou a temperatura da água durante os meses estudados. Além disso convém ressaltar que durante o verão ocorre um aumento do índice pluviométrico no Estado de São Paulo.

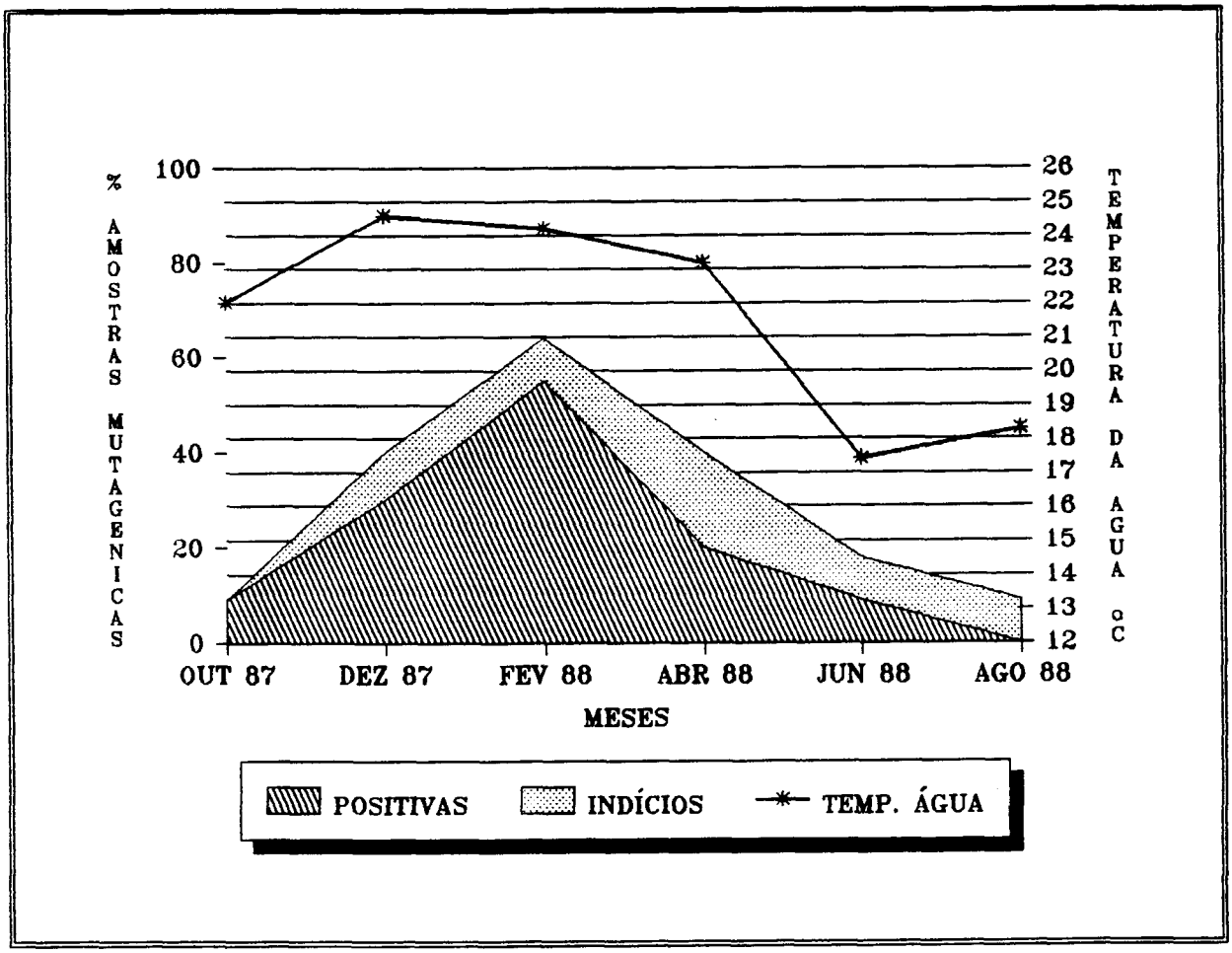


Figura 16 - Distribuição da porcentagem de amostras que apresentaram atividade mutagênica durante os meses de estudo e a média da temperatura da água em °C.

4.4. EFEITO DO SISTEMA DE METABOLIZAÇÃO (MISTURA S9) NA MUTAGENICIDADE DOS CORPOS D´ÁGUA ANALISADOS.

As amostras analisadas apresentaram quatro tipos de resposta em relação ao sistema de metabolização:

A mutagenicidade foi eliminada na presença da mistura S9, indicando a presença de mutágenos diretos que são inativados pela mistura S9. Dentro dessa categoria estão as amostras:

. TE2400FV, PA2180DZ, PR2050DZ, CO2070AG, CA2200FV, MG2150DZ, PA2097DZ e CA2200AB.

A mutagenicidade diminuiu na presença da mistura S9, indicando a presença de mutágenos diretos que são parcialmente inativados pela mistura S9, se tornando menos ativos, ou diferentes tipos de mutágenos diretos, um tipo que não é alterado pelo S9 e outro tipo que é inativado pelo sistema de metabolização. Dentro dessa categoria estão as amostras:

. EM1200FV, CR2500FV, MG2150FV, PR2050FV e JA2800FV.

A mutagenicidade aumentou na presença da mistura S9, indicando a presença de mutágenos diretos que se tornam mais ativos após metabolização, ou estão presentes diferentes mutágenos, tanto do tipo direto como do tipo indireto. Dentro dessa categoria se encontram as amostras:

. TE1040AB, PA2180JN, CA2200DZ e PA2097OT.

A mutagenicidade só foi detectada na presença da mistura S9, indicando a presença de mutágenos indiretos. Dentro dessa categoria se encontram as amostras:

. TE2400JN, PA2097OT, PA2097AB, PA2097JN, PA21800 e PR2050DZ.

Pode-se observar através da figura 17 que a adição da mistura S9 causou modificações em praticamente todas as amostras analisadas.

4.5. ANALISE DA MUTAGENICIDADE DE AMOSTRAS ATRAVÉS DAS DUAS CEPAS EMPREGADAS (TA98 E TA100).

A cepa TA98 foi a cepa que detectou maior número de amostras conforme pode ser visto na tabela 3 e Figura 17. A cepa TA98 sem S9 detectou 10 das 14 amostras positivas e 7 das 8 que apresentaram indícios de mutagenicidade. A TA98 com S9 detectou 9 das 14 amostras positivas e 2 que apresentaram indícios. A TA100 detectou 7 amostras que apresentaram indícios de mutagenicidade e nenhuma amostra positiva. Os resultados indicam a prevalência de mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura nas amostras analisadas. É importante notar que o número de revertentes por litro variou de 39 à 122 para a cepa TA98 para as amostras que apresentaram indícios de mutagenicidade e de 101 à 3265 para as amostras positivas. Para a TA100 o número de revertentes por litro variou de 83 a 467, tendo sido detectados somente indícios de mutagenicidade para esta cepa.

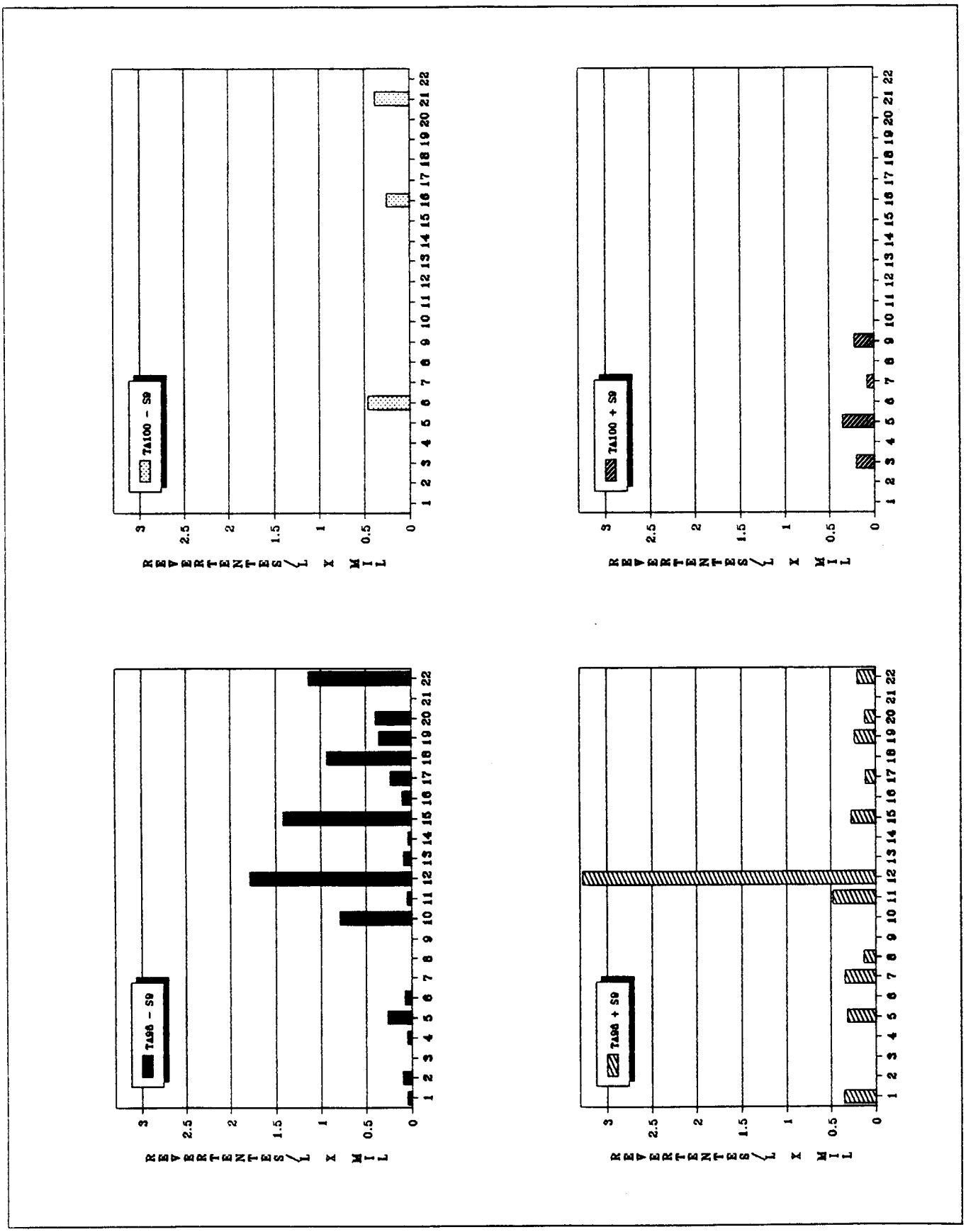


Figura 17. Número de revertentes por litro das amostras mutagênicas frente as cepas analisadas com e sem S9

TABELA 3 - Atividade Mutagênica das amostras que apresentaram resposta frente as cepas testadas durante o período de estudo.

AMOSTRAS COM ATIVIDADE MUTAGENICA	CODIGO	NUMERO DE REVERTENTES POR LITRO EQUIVALENTE TA98 -S9	TA98 +S9	TA100 -S9	TA100 +S9
R. TIETE	TE1040AB	(53)*	354	-**	-
	TE2400FV	101	-	-	-
	JN	-	-	-	(202)
R. COTIA	CO2070AG	(51)	-	-	-
R. PARAIBA DO SUL	PA2097OT	266	320	-	(353)
	DZ	(83)	-	(467)	-
	AB	-	342	-	(83)
	JN	-	132	-	-
	PA2180OT	-	-	-	(221)
	DZ	791	-	-	-
	JN	(57)	477	-	-
R. CAPIVARI	CA2200DZ	1787	3265	-	-
	FV	(87)	-	-	-
	AB	(39)	-	-	-
R. EMBU MIRIM	EM1200FV	1413	270	-	-
R. PARANA-PANEMA	PR2050DZ	(100)	-	(256)	-
	FV	232	(112)	-	-
R. MOGI GUAÇU	MG2150DZ	932	-	-	-
	FV	355	234	-	-
R. CORUMBATAI	CR2500FV	394	(122)	-	-
	AB	-	NA***	(382)	NA
R. JAGUARI	JA2800FV	1141	201	-	-
Nº AMOSTRAS POSITIVAS		10	9	0	0
Nº AMOSTRAS COM INDICIOS		(7)	(2)	(3)	(4)
TOTAL		17	11	3	4

* ( ) Indícios de mutagenicidade
** - Amostra negativa
*** NA Não analisado

5. DISCUSSÃO

5.1. ATIVIDADE MUTAGÊNICA DOS CORPOS D'ÁGUA ANALISADOS.

Dos 11 corpos d'água analisados, apenas dois não apresentaram nenhuma amostra com atividade mutagênica. A Represa Juqueri (JM2050), teve confirmada a qualidade de suas águas cuja área é protegida e abastece o sistema Cantareira na cidade de São Paulo. Já o Rio Grande ou Jurubatuba (GR2100) que apesar de não apresentar nenhuma amostra com atividade mutagênica vem apresentando problemas de poluição com mercúrio (**CETESB**, 1988b e 1989).

O Rio Paraíba do Sul foi aquele que apresentou maior número de amostras positivas (67%) para os pontos analisados, apesar de apresentar índice de qualidade de água (IQA) variando de aceitável a boa (**CETESB**, 1988b e 1989) nos referidos pontos. Além da alta porcentagem de amostras mutagênicas, o rio apresentou diversidade de resposta principalmente no ponto PA2097, em relação à cepas e condições estudadas conforme pode ser observado nas Figuras 7 e 8, indicando a presença de diferentes tipos de compostos mutagênicos. Os resultados sugerem uma necessidade de monitoramento deste rio quanto aos despejos com atividade mutagênica que possam estar sendo lançados, com o objetivo de localizar e, se possível, reduzir as fontes poluidoras. São várias as indústrias que despejam seus efluentes próximo aos locais de coleta dos pontos estudados (item 3.1) e inclusive **COELHO**, M.C.L.S. (comunicação pessoal) analisou recentemente efluentes industriais lançados na região observando alta atividade mutagênica em algumas das amostras estudadas.

O rio Capivari apresentou a amostra com maior atividade mutagênica, em dezembro, com valores de 1787 e 3265 revertentes por litro para a cepa TA98 sem e com S9 respectivamente, diminuindo para 87 e 39 revertentes por litro sem S9 nos meses subsequentes (Figura 9). Considerando-se os baixos valores do IQA dessas águas classificadas como impróprias para tratamento durante todo o período de estudo (**CETESB**, 1988b e 1989),

sugerimos que o ponto deveria ser monitorado para a identificação dos despejos com atividade mutagênica, como está sendo feito no ponto PA2097.

O rio Tietê apresentou também 50% de amostras com atividade mutagênica (Figura 15), sugerindo a necessidade de um monitoramento para localização das fontes poluidoras apesar do IQA ter indicado qualidade de água de aceitável à ótima no período de estudo (**CETESB**, 1988b e 1989).

Os outros rios apresentaram somente uma ou duas amostras com atividade mutagênica, com maior frequência no período do verão (Figura 16) e os referidos IQAs indicaram principalmente qualidade de água de aceitável a boa durante o estudo (**CETESB**, 1988b e 1989).

Sabendo-se que a mutagenicidade presente na água bruta tende a permanecer ou se tornar prevalente na água tratada, segundo **NESTMANN e col.** (1983), **ATHANASIOU & KYRTOPOULOS** (1983), **MARUOKA & YAMANAKA** (1983) e **VARTIAINEN & LIIMATAINEN** (1986), torna-se importante a avaliação das águas brutas antes do tratamento quando se pretende monitorar a qualidade das águas para consumo em relação à presença de compostos mutagênicos. Além disso, seria bastante útil que tratamentos alternativos ou auxiliares adequados fossem desenvolvidos, para eliminação desses compostos com atividade mutagênica tanto oriundos da água bruta, como aqueles gerados durante os processos de tratamento utilizando cloro.

Durante este estudo, o número de revertentes por litro das diferentes amostras analisadas variou de 39 à 3265 para a cepa TA98 e 83 à 467 para a cepa TA100 (Tabela 3). Esses últimos resultados são similiares aos de **VARTIAINEN & LIIMATAINEN** (1986) para a cepa TA100, cujo valor obtido foi de 300 para águas brutas da cidade de Kuopio na Finlândia. Já **GRIMM-KIBALO e col.** (1981) encontraram valores de 1 à 5 revertentes por litro para a cepa TA98 e de 1 à 9 para a TA100 na água bruta do reservatório DeMoines no Iwoa, USA, valores bem menores que os encontrados neste estudo. **FLANAGAN & ALLEN** (1981) em seus estudos em águas brutas da cidade de Chicago, USA, encontraram valores de 3 a 90

revertentes por litro para a cepa TA1538. Mesmo considerando-se os valores mais baixos da taxa de reversão espontânea (ao redor da metade) que a da TA98, pode-se afirmar que os valores encontrados em nosso trabalho foram mais elevados.

Infelizmente a maioria dos trabalhos não apresenta o cálculo do número de revertentes por litro dificultando uma comparação direta dos resultados, em termos de quantificação da atividade mutagênica. O uso de testes estatísticos que permitam esse cálculo é de grande importância na interpretação dos resultados desse teste, principalmente na área ambiental. Convém ressaltar que o programa Salmonel, utilizado neste estudo foi de grande valia na interpretação dos resultados.

Com relação à porcentagem de amostras com atividade mutagênica, que foi de 29% neste estudo, levando-se em conta as 75 amostras analisadas como um todo, podemos notar que valores mais elevados foram encontrados por **PELON e col.** (1977) e por **GLATZ e col.** (1978), nos Estados Unidos, por **DUTKA & SWITZER-HOUSE** (1978), no Canadá, e por **MARTINS e col.** (1982) na região da Grande São Paulo, estando porém, um pouco acima dos dados de **SANCHEZ e col.** (1988) para a região da Grande São Paulo.

Como em nosso estudo esta porcentagem se refere a diferentes corpos d´água amostrados bimestralmente durante um ano, talvez amostragens mais frequentes, durante um menor espaço de tempo de cada um dos rios que apresentaram maior porcentagem de positividade pudessem auxiliar na avaliação da real frequência de amostras com atividade mutagênica facilitando inclusive a identificação das fontes poluidoras e as possíveis ações de controle. De qualquer maneira o estudo permitiu a localização de locais prioritários, como o Rio Paraíba do Sul, no qual em estudos posteriores (**COELHO, M.C.L.S.**, comunicação pessoal) foi possível identificar descargas altamente mutagênicas lançadas nesse rio, influenciando especialmente o ponto PA2097, perto de São José dos Campos (Figura 1).

Além disso, a avaliação quantitivativa da mutagenicidade de um número relativamente grande de amostras de corpos d´água como foi feito neste estudo nos permitiu conhecer os valores mais

frequentes encontrados neste tipo de amostra ambiental (Tabela 3), fornecendo subsídios de importância para futuros projetos deste tipo inclusive para o estabelecimento de critérios de avaliação da mutagenicidade de corpos d'água.

5.2.DISTRIBUIÇAO SAZONAL DA MUTAGENICIDADE DETECTADA NOS DIVERSOS CORPOS D'ÁGUA ANALISADOS.

Os resultados obtidos (Figura 16) mostraram que no mês de fevereiro de 1988 a porcentagem de amostras positivas aumentou para 64%, tendo sido bem mais baixa nos meses de agosto e outubro, ou seja, 9%. Esses resultados foram similares aos obtidos por **PELON e col.** (1977) e **GRIMM-KIBALO e col.** (1981) e, esses últimos autores, atribuiram esse aumento de mutagencidade às fortes chuvas de verão através das quais havia o carreamento de substâncias utilizadas na agricultura.

Estudos sobre a influência das estações do ano e das chuvas deveriam ser conduzidos, combinando-se inclusive bioensaios e análises químicas, para um melhor entendimento do aumento da mutagenicidade nos meses de verão e das prováveis fontes dessa contaminação.

5.3. EFEITO DO SISTEMA DE METABOLIZAÇAO - MISTURA S9

A inativação ou diminuição da mutagenicidade pelo sistema de metabolização que ocorreu em 13 das amostras analisadas (item 4.4) parece ser um fenômeno bastante comum para esse tipo de amostra pois, vários autores observaram o mesmo efeito em seus estudos, tais como **SAXENA & SCHWARTZ** (1979): **FLANAGAN E ALLEN** (1981), **GRIMM-KIBALO e col.** (1981) e **VARGAS e col.** (1988). Esse tipo de inativação foi estudado em efluentes de indústria de papel e celulose por **DOUGLAS e col.** (1980) e **KAMRA e col.** (1983). **DOUGLAS e col.** (1980) identificaram quimicamente três compostos nos efluentes estudados que quando ensaiados no teste

de Ames apresentavam esse tipo de resposta, o ácido neobiético, o tetracloropropeno e o pentacloropropeno. **KAMRA e col.** (1983) mostraram, nos efluentes analisados, que a detoxificação pela mistura S9 não era um processo enzimático mas sim, causada por ligações ao acaso das espécies moleculares presentes na amostra com as proteínas da mistura S9. Estudos para elucidação deste tipo de inativação deveriam ser conduzidos quando se observa esse tipo de mutágeno em amostras ambientais para uma melhor caracterização dos compostos presentes nessas amostras.

Com relação à presença de mutágenos indiretos, 10 amostras analisadas apresentaram este tipo de mutágeno (item 4.4). **VAN KREIJL e col.** (1980) e **MARUOKA E YAMANAKA** (1982) em seus estudos de mutagenicidade em água bruta, observaram que a maioria das amostras apresentaram mutágenos indiretos, o que concorda em parte com os resultados obtidos neste estudo, pois apesar que não ser a maioria, foi grande o número de amostras que apresentou mutágenos deste tipo. Interessante notar também que as amostras que apresentaram mutágenos indiretos foram em sua maioria provenientes dos rios que apresentaram maior porcentagem de amostras com atividade mutagênica.

Seria importante em estudos posteriores incluir análises químicas dos extratos para identificação dos compostos e separação dos mesmos através de fracionamento químico para elucidação das diferentes respostas frente ao Teste de Ames.

5.4. ANÁLISE DA MUTAGENICIDADE ATRAVES DAS DUAS CEPAS EMPREGRADAS (TA98 e TA100).

A maioria das amostras que apresentaram atividade mutagênica foi positiva para a cepa TA98, a qual detecta mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura, indicando a prevalência desse tipo de mutágeno nas amostras analisadas. Resultados semelhantes foram obtidos por **PELON e col.** (1977) para o Rio Mississipi nos Estados Unidos, **MARUOKA & YAMANAKA** (1980 e 1982) para o rio Katsura no Japão, por **GRABOW e col.** (1980) para o rio Vaal na Africa do Sul, por **VAN KREIJL e col.** (1980) para o rio

Rhine e Meuse na Holanda, e por **MARTINS e col.** (1982) para águas brutas da região da Grande São Paulo.

Isto nos permite inferir que a maioria dos mutágenos presentes em corpos d´água parecem ser do tipo que causa deslocamento do quadro de leitura, apesar de **DUTKA & SWITZER HOUSE** (1978), terem demonstrado em seus estudos a prevalência de mutágenos que causam substituição de pares de base no DNA.

6. CONCLUSÕES

O teste de Ames foi útil na avaliação da mutagenicidade de águas brutas e pode ser usado no monitoramento da qualidade das águas quanto a mutagenicidade, tendo em vista sua sensibilidade na detecção de mutágenos ambientais, sua facilidade de execução, rapidez de resposta e baixo custo quando comparado com outros ensaios de mutagenicidade e análises químicas.

O emprego de testes estatísticos que permitam o cálculo do número de revertentes por litro parece ser a maneira mais adequada para a interpretação e expressão dos resultados, permitindo comparações entre diferentes corpos d´água pertencentes a locais diversos, mesmo quando ensaiado em doses distintas. Esse valor também reflete a potência do ou dos mutágenos presentes na amostra, quando associado a cepa teste empregada.

Os valores obtidos de revertentes por litro obtidos variaram de 39 a 3265 para a cepa TA98 e de 83 a 467 para a cepa TA100, indicando a magnitude da resposta mutagênica para os corpos d´agua estudados do Estado de São Paulo, o que poderá ser útil, no futuro estabelecimento de critérios para regulamentação e controle da atividade mutagênica presente em corpos d´agua.

Com relação ao tipo de mutágeno prevalente nas amostras estudadas, por ter sido a resposta positiva mais frequente para a cepa TA98, podemos inferir que há uma prevalência de mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura do DNA nas amostras analisadas.

Houve um aumento da mutagenicidade no mês de fevereiro, sugerindo que a mutagenicidade de águas brutas aumenta durante os meses mais quentes do ano, provavelmente devido ao carreamento de substâncias mutagênicas através das chuvas comuns nesta época do ano.

Os resultados mostraram que o monitoramento realizado através do teste de Ames permitiu indicar locais aonde parecem existir, frequentemente despejos de substâncias mutagênicas como o Rio Paraíba do Sul, Rio Capivari e Rio Tietê, cuja fonte de substâncias mutagênicas poderiam ser os efluentes industriais, tendo em vista a presença de indústrias nos locais de coleta. Dessa forma, o teste de Ames pode ser bastante útil tanto na indicação como na avaliação do tratamento de efluentes industriais e na avaliação de ecossistemas aquáticos com altos níveis de contaminação química.

7. RESUMO

Este trabalho teve por objetivo a caracterização através do teste de Ames, da mutagenicidade de extratos orgânicos provenientes de amostras de 11 corpos d´água do Estado de São Paulo que são utilizados como fonte de abastecimento público, bem como a verificação da aplicação deste bioensaio em estudos de monitoramento.

Foram analisadas frente ao teste de Ames 75 amostras, coletadas bimestralmente de outubro de 1987 a junho de 1988. As cepas utilizadas foram TA98 e TA100 de Salmonella typhimurium e os ensaios foram realizados na presença e ausência de sistema de metabolização (mistura S9).

As extração orgânica das amostras foi realizada com resina XAD2 e a concentração foi de 1000 vezes. Os resultados do teste de Ames foram avaliados estatisticamente usando o programa SALMONEL.

Das 75 amostras analisadas 14 (19%) apresentaram positividade e, 8 (11%) indícios de mutagenicidade, perfazendo um total de 29% de amostras com atividade mutagênica.

O rio que apresentou maior porcentagem de amostras positivas foi o Rio Paraíba do Sul e aquele que apresentou a amostra com a maior atividade mutagênica foi o Rio Capivari.

Os valores de revertentes por litro obtidos variaram de 39 a 3265 para a cepa TA98 e de 83 a 467 para a cepa TA100 e houve prevalência de mutágenos que causam deslocamento do quadro de leitura. Na maioria dos casos o sistema de metabolização-mistura S9 alterou a mutagenicidade encontrada nas amostras, ou inativando os mutágenos presentes ou sendo responsável por sua detecção.

A porcentagem de amostras mutagênicas no mês de outubro de 1987 foi de 9% aumentando para 64% no mês de fevereiro de 1988 e decrescendo novamente para 9% no mês de agosto de 1988.

Conclui-se que o teste de Ames foi útil na avaliação da mutagenicidade de águas brutas do Estado de São Paulo, e pode ser aplicado em estudos de monitoramento da qualidade das águas, como instrumento auxiliar para detecção de genotoxicidade.

8. ABSTRACT

The aim of this work was the characterization of mutagenicity of organic extracts from 11 watercourses of São Paulo State, that have been used as drinking water sources, using the Ames test, and verify the application of this bioassay in monitoring studies.

There were analysed, using the Ames test, 75 samples, collected bimonthly from October of 1987 to August of 1988. The employed strains were TA98 and TA100 of Salmonella typhimurium and the assays were performed with and without metabolic activation system (S9 mix).

The organic extraction were done with XAD2 resin, and the concentration was 1000 times. The results of the Ames Test were statistically analysed using the program SALMONEL.

From the 75 samples analysed, 14 (19%) showed positive responses, and 8 (11%), marginal responses, making up 29% of mutagenic samples.

Paraíba do Sul River showed the highest percentage of positive samples and Capivari River showed the highest mutagenic sample.

The amplitude of the mutagenic response, in revertants per liter was 39 to 3265 for strain TA98 and 83 to 467 for strain TA100, and it was observed the prevalence of frameshift mutagens. In the majority of the mutagenic samples the metabolization system (S9 mix) modified the mutagenicity, or inactivating the mutagens or being responsable for their detection.

The percentage of mutagenic samples in October of 1987 was 9%, increasing to 64% in February, and decreasing to 9% in August of 1988.

We conclude that the Ames test was useful in the mutagenicity evaluation of raw waters from São Paulo State and can be applied in monitoring studies of water quality, as an auxiliary instrument to detect genotoxicity.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALPER, M.D. & B.N. AMES, 1975. Positive selection of mutants with deletions of the gal-chl region of the Salmonella chromosome as a screening procedure for mutagens that cause deletions. **Journal of Bacteriology, 121**: 259 - 266.

AMES, B.N., 1971. The detection of mutagens with enteric bacteria. In: HOLLAENDER, A., ed. **Chemical mutagens, Principles and Methods for their detection.** New York, Plenum. v.1. p. 267 - 282.

AMES, B.N., W. DURSTON, E. YAMASAKI & F. LEE, 1973. Carciongens are mutagens: a simple test combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. **Proceedings of National Academic Science (USA), 70**: 2281 - 2285.

AMES, B.N., J. MCCANN & E. YAMASAKI, 1975. Methods for detection carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian microsome mutagenicity test. **Mutation Research, 31**: 347 - 364.

AMES, B.N. & J. MCCANN, 1976. Carcinogens are mutagens, a simple test system. In: MENTSANDO, R. & L. TOMATIS, ed. **Screening tests in chemical carcinogenesis.** Lyon, International Agency for Research on Cancer. v.12. p. 493 - 504.

ATHANASIOU, K. & S.A. KYRTOPOULOS, 1983. Mutagenic and clastogenic effects of organic extracts from the Athenian drinking water. **The Science of Total Environment, 27**: 113-120.

AULETA, A. & J. ASHBY, 1988. Workshop on the relationship between short-term test information and carcinogenicity-Williamsburg, Vg, Jan20-23/87.**Environmental Molecular Mutagenesis, 11**: 135 - 145.

BALBINDER, E. & D. KERRY, 1984 . A new strain of Salmonella typhimurium reverted by mitomycin C and N-methyl-N´nitro-N-nitrosoguanidine - a possible universal tester strain for mutagenic compounds. **Mutation Research, 130**: 315 - 320.

BARNES, W., E. TULEY & E. EISENSTADT, 1982. Base sequence analysis of his+ revertants of the hisG46 missence mutation in Salmonella typhimurium. **Environmental Mutagenesis, 4**: 297 (Abstr. Aa-1).

BERNSTEIN, L., J. KALDOR, J. MC CANN & M.C. PIKE, 1982. An empirical approach to the statistical analysis of mutagenesis data from Salmonella test. **Mutation Research, 97**: 267 - 281.

BRASIL, 1986. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 20 de 18 de junho de 1986. **Diário Oficial**, Brasília, 30 de julho de 1986. Classifica as águas do Território Nacional.

BULL, R.J. ,1981. Is drinking water a significant source of human exposure to chemical carcinogens and mutagens ?. In: WATERS, M.D. **e col.**, ed. **Short term bioassays in the analysis of complex environmental mixtures.** v.2. USA, Plenum. p. 135-139.

CETESB, São Paulo, 1988a. Mutação gênica reversa em Salmonella typhimurium - Teste de Ames. São Paulo, Cetesb, 44 p. (Norma Técnica, nº L5.620).

CETESB, São Paulo, 1988b. Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo - 1987. São Paulo, Cetesb. 134 p.

CETESB, São Paulo, 1989. Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo - 1988. São Paulo, Cetesb. 166 p.

CHEH, A.M., J. SKOCHDOPOLE, P. KOSKI & L. COLE, 1980. Non volatile mutagens in drinking water: Production by chlorination and destruction by sulfite. **Science, 207**: 90-92.

CLAXTON, L.D., J. ALLEN, A. AULETA, K. MORTELMANS, E. NESTMANN & E. ZEIGER, 1987. Guide for the Salmonella typhimurium/mammalian microsome test for bacterial mutagenicity. **Mutation Research, 189**: 83 - 91.

DE MARINI, D.M., M.J. PLEWA & H.E. BROCKMAN, 1982. Use of four short term tests to evaluate the mutagenicity of municipal water. **Journal of Toxicology and Environmental Health, 9**: 127 - 140.

DOUGLAS, G.R., E.R. NESTMANN, R.J.P. BROUZES, J.L. BETTS, A.L. CHMELAUSKAS, H.D. PAAVILA, J.C. MUELLER, E.G.H. LEE, H.F. STICH, R.H.C. SAN & C.C. WALDEN, 1980. Mutagenic activity in pulp mill effluents. In: JOLLEY, R.L., W.A. BRUNGS, R.B. CUMMING & V.A. JACOBS. **Water chlorination - Environmental Impact and Health Effects**. Ann Arbor, Ann Arbor Science. v.3. p. 865 - 880.

DOUGLAS, G.R., E.R. NESTMANN & G. LEBEL, 1986. Contribution of chorination to the mutagenic activity of drinking water extracts in Salmonella and chinese hamster ovary cells. **Environmental Health Perspectives, 69**: 81 - 87.

DRESSLER, M., 1979. Extraction of trace amounts of organic compounds from water with porous organic polymers. **Journal of Chromatography, 165**: 167 - 206.

DUNKEL, V., E. ZEIGER, D. BRUSICK, E. MC COY, D. MC GREGOR, K. MORTELMANS, H.S. ROSENKRANZ, & V.F. SIMMON, 1985. Reproducibility of microbial mutagenicity assays: II.Testing

of carcinogens and non carcinogens in Salmonella typhimurium and E. coli. **Environmental Mutagenesis, 7**(S5): 1 - 52.

DUTKA, B.J. & K. D. SWITZER-HOWSE, 1978. Report on the distribuition of mutagens and acute toxicants in lake Ontario waters as assessed by microbiological procedures. Burlington, Ontario, C.C.I.W. 18 p.

EPA, USA, 1985. Guidelines for preparing environmental and waste samples for mutagenicity (AMES) testing: Interim Procedures and Panel Meeting Proceedings. Sep. 1985, Las Vegas, EPA. p. 255. (EPA 600/07/68-03-3136).

FEDERAL REGISTER, 1979. Guidelines Establishing test procedures for the analysis of pollutants. Washington, 44 (223), december, 3.

FLANAGAN, E. & H.E. ALLEN, 1981. Effect of water treatment on mutagenic potential. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 27**: 765 - 772.

FORSTER, R., 1984. Mutagenicity testing of drinking water using freeze-dried extracts. In: Society for Applied Bacteriology (ed). **Microbiological Methods for Environmental Biotechnology.** p. 375 - 390.

GIBBONS, J.H., 1982. **The role of genetic testing in the prevention of occupation disease**. Washington, OTA, p. 52 - 53.

GLATZ, B.A.; C. D. CHRISWELL, M.D. ARGUELLO, H.J. SVEC, J.S. FRITZ, S.M. GRIMM & M.A. THOMSON, 1978. Examination of drinking water for mutagenic activity. **Journal of American Water Works Association, 70**: 465 - 468.

GOTTLIEB, M.S & J.K. CARR, 1982. Case control cancer mortality

study and chlorination of drinking water in Lousiana. **Environmental Health Perspectives, 46**: 169 - 177.

GRABOW, W.O.K, R. DENKHAUS & P.G. VAN ROSSUM, 1980. Detection of mutagens in wastewater, a polluted river and drinking water by means of the Ames Salmonella/microsome assay. **South African Journal of Science, 76**: 118 - 123.

GRABOW, W.O.K, J.S. BURGER & C.A. HILNER, 1981a. Comparison of liquid-liquid extraction and resin adsorption for concentrating mutagens in Ames Salmonella/microsome assay in water. **Bulletin of Enviromental Contamination and Toxicology, 27**: 442 - 449.

GRABOW, W.O.K, P.G. VAN ROSSUN, N.A. GRABOW & R. DENKHAUS, 1981b. Relationship of the raw water quality to mutagens detected by the Ames Salmonella/microsome assay in a drinking water supply. **Water Research, 15**: 1037 - 1043.

GRIMM-KIBALO, S., B.A. GLATZ & J.S. FRITZ, 1981. Seasonal variation of mutagenic activity in drinking water. **Bulletin of Environmental Contamination ad Toxicology, 26**: 188 - 195.

GUTTMAN-BASS, N., M. BAIREY-ALBUQUERQUE, S. ULITZUR, A. CHARTRAND & C. RAV-ACHA, 1987. Effects of chlorine and chlorine dioxide on mutagenic activity of lake Kinnereth water. **Environmental Science and Technology, 21**: 252 - 260.

HOLLSTEIN, M.J., MC CANN, D. ANGELOSANDO & W.W. NICHOLS, 1979. Short term tests for carcinogens and mutagens. **Mutation Research, 65**: 133 - 226

HUGHES,T.J., E. PELLIZZARI, L. LITTLE, C. SPARACINO & A. KOLBER, 1980. Ambient air pollutants: Colletion, chemical characterization and mutagenicity tests. **Mutation Research, 76**: 51 - 83

ISONO, K & Y. YOURNO, 1974. Chemical carcinogens as frameshift mutagens: Salmonella DNA sequence sensitive to mutagenesis by polycyclic carcinogens. **Proceedings of National Academic Science (USA), 71**: 1612 - 1617.

KADO, N.Y., D. LANGLEY AND E. EISENSTADT, 1983. A simple modification of the Salmonella liquid incubation assay. **Mutation Research, 121**: 25 - 32.

KAMRA, O.P., E.R. NESTMANN, G.R. DOUGLAS, D.J. KOWBEL & R. R. HARRINGTON, 1983. Genotoxicity activity of pulp mill effluent in Salmonella and Saccharomyces cerevisiae assays. **Mutation Research: 118**: 269 - 276.

KANAREK, M.S. & T.B. YOUNG, 1982. Drinking water treatment and risk of cancer death in Wisconsin. **Environmental Health Perspectives, 46**: 179 - 186.

KAPPAS, A. & A.P. ALVARES, 1975. How the liver metabolizes foreign substances. **Scientific American, 232(6)**: 22 - 31.

KINAE, N., T. HASHIZUME, T. MAKITA, I. TOMITA, I. KIMURA & H. KANAMORI, 1981. Studies on the toxicity of pulp and paper mill effluents - I. Mutagenicity of the sediment samples derived from kraft paper mills. **Water Research, 15**: 17 - 24.

KOOL, H.J. & C.F. VAN KREIJL, 1984. Formation and removal of mutagenic activity during drinking water preparation. **Water Research, 18**: 1011 - 1016.

KOOL, H.J., C.F. VAN KREIJL, E. DE GREEF & H.J. VAN KRANEN, 1982. Presence, introduction and removal of mutagenic activity during de preparation of drinking water in the Netherlands. **Environmental Health Perspectives, 46**: 207 - 214.

KOPFLER, F.C., W.E. COLEMAN, R.G. MELTON, R.G. TARDIFF, S.C. LYNCH & J.K. SMITH, 1977. Extraction and identification of organic micropollutants: Reverse osmosis method. **Annals of New York Academic Science, 298**: 20 - 30.

KRAYBILL, H.F., C.T. HELMES, C.C. SIGMAN, J. JUSHON & D. THOMAN, 1979. Identification and classification of carcinogenic /mutagenic biorefractories in water and their probable risk. In: International Symposium on organic compounds in water, Säo Paulo, Brazil, December 3 - 7.

LLAGOSTERA, M. S. GARRIDO, J. BARBÉ, R. GUERRERO, I. ESPADALER, J. CAIXACH, F. VENTURA & J. RIVIERA, 1986. Identification of organic contaminants and detection of genotoxic activity from Llobregat river and drinking water. In: Proceedings of the EEMS of the XVIth Annual meeting. August, 25 - 30,1986, Brussels, Belgium. p. 126 - 131.

LEVIN, D.E., E. YAMASAKI & B.N. AMES, 1982a. A new Salmonella tester strain (TA97), for the detection of frameshift mutagens. **Mutation Research, 94**: 315 - 330.

LEVIN, D.E., M. HOLLSTEIN, M.F. CHRISTMAN, E. A. SCHWIERS & B.N. AMES, 1982b. A new Salmonella tester strain (TA102) with A.T base pair at the site of mutation detects oxidative mutagens. Proceedings of National Academic Science (USA), 79: 7445-7449.

LOPER, J.C., 1980. Mutagenic effects of organic compounds in drinking water. **Mutation Research, 76**: 241 - 246.

LOPER, J.C., 1984. Biological testing of waterborne organics. In: SUFFET , I.H. & M. MALIYAND, ed. **Organic pollutants in water: Sampling, analysis and toxicity testing**. Advances in Chemistry series 214, American Chemical Society. p. 595 - 604.

MARON, D.M. & B.N. AMES, 1983. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. **Mutation Research, 113:** 173 - 215.

MARTINS, M.T., P.S. SANCHEZ, M.I.Z. SATO, & S. GAGLIANONE, 1982. Detecção de substâncias mutagênicas em água - Resultados Preliminares. In: ACIESP, ed. **Anais do VI simpósio anual da ACIESP.** v.3, 1982. p. 114 - 119.

MARUOKA, S. & S. YAMANAKA, 1980. Production of mutagenic substances by chlorination of waters. **Mutation Research, 79:** 381 - 386.

MARUOKA, S. & S. YAMANAKA, 1982. Mutagenicity in S. typhimurium tester strains of XAD_2 - ether extract, recoverd from Katsura river water in Kyoto city and its fractions. **Mutation Research, 102:** 13 - 26.

MARUOKA, S. & S. YAMANAKA, 1983. Mutagenic potential of laboratory chlorinated river water. **The Science of total Environment, 29:** 143 - 154.

MCCANN, J. E. CHOI, E. YAMASAKI & B.N. AMES, 1975. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: assay of 300 chemicals. **Proceedings of National Academic Science (USA), 72:** 5135 - 5139.

MCCANN, J. & B.N. AMES, 1977. The Salmonella/microsome mutagenicity test: predictive value for animal carcinogenicity. In: HIATT, H.H., J.D. WATSON & J.A. WINSTEN, ed. **Origins of Human Cancer.** New York, Cold Spring Harbor. p. 1431 - 1450.

MCCOY, E.C., H.S. ROSENKRANZ & R. MERSMELSTEIN, 1981. Evidence for the existence of a family of nitroreductases capable of activating nitrated polycyclic to mutagens. **Environmental Mutagenesis, 3:** 421 - 427.

MCGEORGE, L.S., J.B. LOUIS, T.B. ALTHERHOLT & G.J. MCGARRITY, 1985. Mutagenicity analysis of industrial effluents: Results and consideration for integration into water pollution control programs. In: WATERS, M.D. **e col.**, ed. **Short term bioassays in the analysis of complex environmental mixtures.** USA, Plenum. v.4. p. 247 - 267.

MEIER, J.R., R.D. LINGG & R.J. BULL, 1983. Formation of mutagens following chlorination of humic acid - a model for mutagen formation during drinking water treatment. **Mutation Research, 118**: 25 - 41.

MEIER, J.R., 1988. Genotoxic activity of organic chemicals in drinking water. **Mutation Research, 196**: 211 - 245.

MERMELSTEIN, R.D., K. KIRIAZIDES, M. BUTLER, E.C. MCCOY & H.S. ROSENKRANZ, 1981. The extraordinary mutagenicity of nitropyrenes in bacteria. **Mutation Research, 89**: 187 - 196.

MORTELMANS, K., S. HAWORTH, T. LAWLOR, W. SPECK, B. TAINER & E. ZEIGER, 1986. Salmonella mutagenicity tests. II. Results from the testing of 270 chemicals. **Environmental Mutagenesis, 8 (s7)**: 1 - 39.

NESTMANN, E.R., G.L. LEBEL, D.T. WILLIAMS & D.J. KOWBEL, 1979. Mutagenicity of organic extracts from Canadian drinking water in the Salmonella / mammalian microsome assay. **Environmental Mutagenesis, 1**: 337 - 345.

NESTMANN, E.R., R. OSTON, G.L. LEBEL, D.T. WILLIAMS, E.G.H. LEE, & D.C. BIGGS, 1983. Correlation of water quality parameters with mutagenicity of drinking water extracts. In: JOLLEY, R.L. e col. **Water chlorination - Envvironmental Impact and Health Effects.** Ann Arbor, Ann Arbor Science. v.4. cap. 82. p. 1151-1164.

NESTMANN, E.R., R.L. BRILLINGER, M.F. MACPHERSON & K.L. MAUS, 1987. The SIMULTEST: a new approach to screening chemicals with the Salmonella reversion assay. **Environmental Molecular Mutagenesis,** 10: 169 - 181.

PAGE, T., R.H. HARRIS & S.S. EPSTEIN. 1976. Drinking water and cancer mortality in Louisiana. **Science, 193**: 55 - 57.

PAULUSSEN, J. R. GERMONPRE, L. VERSCHAEVE, C. WILDEMAUWE & M. KIRSCHVOLDERS, 1986. Formation and removal of mutagenic activity during water treatment in WPC the Blankaart (Belgium). In: **EEMS Proceedings of the XVIth Annual Meeting 25-30, Aug., 1986**. Brussels. p.132 - 136.

PELLIZZARI, E.D., L.S. SHELDON, J.T. BURSEY, L.C. MICHAEL & R. A. ZWEIDINGER, 1984. **Master analytical scheme for organic compounds in water.** Athens, EPA. Cap. 9. p.154 - 169.

PELON, W., B.F. WHITTMAN & T.W. BEASLEY, 1977. Reversion of histidine dependent mutant strains of Salmonella typhimurium by Mississipi river water samples. **Environmental Science and Technology,** 11: 619 - 623.

PREIN, A.E, G.M. THIE, G.M. ALINK & J.H. KOEMAN, 1978. Cytogenetic changes in fish exposed to water of the river Rhine. **The Science of Total Environment, 9**: 287 - 291.

PURCHASE, I., E. LONGSTAFF, J. ASHBY, J. STYLES, D. ANDERSON, P. LEFREVE & R. WESTWOOD, 1978. An evaluation of six short-term tests for detecting organic chemical carcinogens. **British Journal of Cancer, 37**: 873 - 903.

RAPPAPORT, S.M., M.G. RICHARD, M.C. HOLLSTEIN & R.E. TALCOTT, 1979. Mutagenic activity in organic wastewater concentrates. **American Chemical Society, 13:** 957 - 961.

SATO, T., T. MOMMA, T. ISHIKAWA & K. KATO, 1983. Mutagenicity of Nagara River sediment. **Mutation Research, 118**: 257 - 267.

SANCHEZ, P.S., M.I.Z. SATO, C.M.R.B. PASCHOAL, M.N. ALVES, E.V. FURLAN & M.T. MARTINS, 1988. Toxicity assessment of industrial effluents from S. Paulo State, Brazil, using short term microbial assays. **Toxicity Assessment, 3**: 55 - 80.

SAXENA, J., 1984. In vitro test systems for mutagenicity screening of environmental chemicals. **Revista de Microbiologia, São Paulo, 15**: 1-16.

SAXENA, J. & D.J. SCHWARTZ, 1979. Mutagens in wastewater renovated by advanced wastewater treatment. **Bulletin of Environmental Comtamination and Toxicology, 22**: 319 - 326.

SCHWARTZ, D.J., SAXENA, J. & F.C. KOPFLER, 1979. Water distribution system, a new source of mutagens in drinking waters. **Environmental Science and Technology, 13**: 1138 - 1141.

TENNANT, R.W. B.H. MARGOLIN, M.D. SHELBY, E. ZEIGER, J.K. HASEMAN, J. SPALDING, W. CASPARY, M. RESNICK, S. STASIEWICZ, B. ANDERSON & R. MINOR, 1987. Prediction of chemical carcinogenicity in rodents from in vitro genetic toxicity assays. **Science, 236**: 933 - 941.

TYE, R.J. & W.M. WAITE, 1981. Mutagens, carcinogens and the water cycle. **Water Pollution Control, 80**: 600 - 612.

VAN KREIJL, C.F., H.J. KOOL, M. DE VRIES, H.J. VAN KRANEN & E. DE GREEF, 1980. Mutagenic activity in the rivers Rhine and Meuse in the Netherlands. **The Science of Total Environment, 15**: 137 - 147.

VARGAS, V.M.F., V.E.P. MOTTA & J.A.P. HENRIQUES, 1988. Analysis of mutagenicity of waters under the influence of Petrochemical

Industrial Complexes by the Ames Test (**Salmonella**/Microsome). **Revista Brasileira de Genética, 11**: 505 -518.

VARTIANINEN, T. & A. LIIMATAINEN, 1986. High levels of mutagenic activity of chlorinated drinking water in Finland. **Mutation Research, 169**: 29 - 34.

WATSON, J.D,, N. HOPKINS, J.W. ROBERTS, J.A. STEITZ & A.M. WEINER, 1987. **Molecular Biology of the gene**. Melopark, California, Benjamin Cummings. v.2. ed.4. p.1058.

WILLIAMS, D.T., E.R. NESTAMANN, G.L. LEBEL, F.M. BONOIT & R. OTSON, 1982. Determination of mutagenic potential and organic contaminants of Great Lakes drinking water. **Chemosphere, 11**: 263 - 276.

WRIGHT, A.S., 1980. The role of metabolism in chemical mutagenesis and chemical carcinogenesis. **Mutation Research, 75**: 215 - 241.

APÊNDICE DE TABELAS

TABELA A1 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 1 - JM2050

Campanha: OUTUBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	48	35	45	42.7		40	56	48	48.0		157	146	145	149.3		168	153	185	168.7	
25																				
50	35	36	38	36.3	0.85	31	33	50	38.0	0.79	179	183	178	180.0	1.21	119	160	128	135.7	0.80
100	28	36	40	34.7	0.81	35	38	36	36.3	0.76	195	175	161	177.0	1.19	185	185	158	176.0	1.04
200	29	37	35	33.7	0.79	48	53	46	49.0	1.02	162	166	157	161.7	1.08	124	160	161	148.3	0.88
(+)						250	244	136	210.0	4.38	825	699	720	748.0	5.01					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	23.8% ns	12.2% ns	1.1% *	10.8% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (48.4%)	LINEAR (6.9%)	LINTOX2 (15.1%)	LINEAR (5.9%)
P DOSE RESPOSTA	95.3% ns	31% ns	0.1% ***	67% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: DEZEMBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	28	34	32	31.3		50	40	55	48.3		193	183	214	196.7		171	161	170	167.3	
25																				
50	34	47	40	40.3	1.29	49	58	44	50.3	1.04	155	204	195	184.7	0.94	179	178	200	185.7	1.11
100	33	45	48	42.0	1.34	52	46	49	49.0	1.01	149	218	195	187.3	0.95	199	165	147	170.3	1.02
200	30	40	32	34.0	1.09	48	52	54	51.3	1.06	186	216	174	192.0	0.98	150	169	199	172.7	1.03
(+)						233	191	215	213.0	4.41	734	817	699	750.0	3.81					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	14.7% ns	91.5% ns	83.2% ns	69.8% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (8.2%)	LINEAR (90.9%)	LINEAR (66.3%)	LINEAR (50.8%)
P DOSE RESPOSTA	36.6% ns	29.6% ns	48% ns	49.5% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

(+) Controle positivo

TABELA A1 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 1 - JM2050
Continuação

Campanha: FEVEREIRO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	20	27	20	22.3		36	24	24	28.0		197	141	127	155.0		174	153	170	165.7	
25	43	35	26	34.7	1.55	34	36	27	32.3	1.15	181	167		174.0	1.12	166	206	190	187.3	1.13
50	29	40	26	31.7	1.42	28	31	28	29.0	1.04	204	146	157	169.0	1.09	138	178	175	163.7	0.99
100	16	31	33	26.7	1.19	24	36	26	28.7	1.02	145	146	125	138.7	0.89	171	162	126	153.0	0.92
200	35	29	36	33.3	1.49	39	33	34	35.3	1.26	102	115	79	98.7	0.64	149	182	137	156.0	0.94
(+)						335	273		304.0	10.9										

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	19.6% ns	45.6% ns	1.7% *	39.7% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (19.8%)	LINEAR (56.5%)	LINEAR (51.3%)	LINEAR (44.7%)
P DOSE RESPOSTA	10.6% ns	10.4% ns	99.9% ns	88.4% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: ABRIL DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	20	21	35	25.3		26	40		33.0		140	134	121	131.7		127	139	184	150.0	
25	32	22	38	30.7	1.21	35	32	46	37.7	1.14	173	163	192	176.0	1.34	160	171	153	161.3	1.08
50	46	40	46	44.0	1.74	33	40	36	36.3	1.10	163	164	168	165.0	1.25	156	175	156	162.3	1.08
100	22	44		33.0	1.30	37	33	42	37.3	1.13	173	180	167	173.3	1.32	157	176	142	158.3	1.06
200	52	46	31	43.0	1.70	50	50	33	44.3	1.34	131	152	153	145.3	1.10	172	180	141	164.3	1.10
(+)						368	419		393.5	11.9	904	921		912.5	6.93					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	16.4% ns	54.2% ns	3.1% *	89.5% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (33.6%)	LINEAR (90.1%)	-	LINEAR (89%)
P DOSE RESPOSTA	3.1% *	6.6% ns	-	26.2% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A1 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 1 - JM2050
Continuação

Campanha: JUNHO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	26	26	20	24.0		27	40	34	33.7		138	177	128	147.7		183	115	182	160.0	
25	30	23	28	27.0	1.13	43	34	45	40.7	1.21	146	201	157	168.0	1.14	142	139	228	169.7	1.06
50	16	18	26	20.0	0.83	34	26	28	29.3	0.87	140	130	147	139.0	0.94	145	163		154.0	0.96
100	29	25		27.0	1.13	38	31	22	30.3	0.90	176	115	146	145.7	0.99	180	144	141	155.0	0.97
200	29	16		22.5	0.94	30	35		32.5	0.97	163	146		154.5	1.05	128	159	143	143.3	0.90
(+)						255	323		289.0	8.58	982	1168		1075	7.28					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	49% ns	32% ns	67.4% ns	88.9% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (36.2%)	LINEAR (24.6%)	LINEAR (52.6%)	LINEAR (96.3%)
P DOSE RESPOSTA	60% ns	75.2% ns	50.8% ns	80.4% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: AGOSTO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	37	28	32	32.3		39	34	35	36.0		185	221	241	215.7		229	191		210.0	
25	31	17	28	25.3	0.78	49	44	43	45.3	1.26	161	191	187	179.7	0.83	178	197	181	185.3	0.88
50	38	37	24	33.0	1.02	40	37	35	37.3	1.04	169	223	176	189.3	0.88	213	166	160	179.7	0.86
100	44	24	45	37.7	1.16	38	37		37.5	1.04	165	188	194	182.3	0.85	186	157	155	166.0	0.79
200	37	34		35.5	1.10	44	36		40.0	1.11	160	174	187	173.7	0.81	187	206	303	232.0	1.10
(+)											1342	1453		1398	6.48					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	37.2% ns	3.8% *	25% ns	22.2% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (41%)	-	LINEAR (38.2%)	LINEAR (19.6%)
P DOSE RESPOSTA	11.7% ns	-	94.3% ns	14.7% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A2 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 2 - TE1040

PONTO:RIO TIETE - TE1040

Campanha: OUTUBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	48	35	45	42.7		40	56	48	48.0		157	146	145	149.3		168	153	185	168.7	
25																				
50	37	48	52	45.7	1.07	60	37	44	47.0	0.98	170	192	179	180.3	1.21	148	174	130	150.7	0.89
100	46	31	39	38.7	0.91	39	40	45	41.3	0.86	162	159	184	168.3	1.13	185	192	171	182.7	1.08
200	37	31	49	39.0	0.91	44	42	39	41.7	0.87	172	157	179	169.3	1.13	151	169	150	156.7	0.93
(+)						250	244	136	210.0	4.38	825	699	720	748.0	5.01					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	68.9% ns	57.1% ns	4% *	15.9% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (67.8%)	LINEAR (73.1%)	LINTOX1 (7.1%)	LINEAR (9%)
P DOSE RESPOSTA	78.7% ns	87.2% ns	0.3% **	63.8% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: DEZEMBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	28	34	32	31.3		50	40	55	48.3		193	183	214	196.7		171	161	170	167.3	
25																				
50	30	23	38	30.3	0.97	39	36	43	39.3	0.81	156	140	133	143.0	0.73	125	117	130	124.0	0.74
100	33	30	23	28.7	0.91	44	49	44	45.7	0.94	119	138	160	139.0	0.71	121	147	159	142.3	0.85
200	35	25	41	33.7	1.07	43	44	33	40.0	0.83	132	143	145	140.0	0.71	172	129	126	142.3	0.85
(+)						233	191	215	213.0	4.41	734	817	699	750.0	3.81					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	80.2% ns	19.4% ns	0.8% **	8.2% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (68.3%)	LINEAR (17.6%)	BERNSTEIN (11.5%)	BERNSTEIN (7.3%)
P DOSE RESPOSTA	33.4% ns	88% ns	99.8% ns	91.6% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A2 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 2 - TE1040

Continuação

Campanha: FEVEREIRO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	20	27	20	22.3		36	24	24	28.0		197	141	127	155.0		174	153	170	165.7	
25	23	21	20	21.3	0.96	14	19	35	22.7	0.81	142	153	115	136.7	0.88	125	162	133	140.0	0.85
50	18	8	22	16.0	0.72	39	36	27	34.0	1.21	161	138	158	152.3	0.98	136	110	124	123.3	0.74
100	14	23		18.5	0.83	21	33	29	27.7	0.99	126	115	144	128.3	0.83	120	139	152	137.0	0.83
200	13	15	23	17.0	0.76	28	23	27	26.0	0.93	106	105	128	113.0	0.73	157	133	136	142.0	0.86
(+)						335	273		304.0	10.9										

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	60% ns	52.8% ns	13.3% ns	7.9% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (60%)	LINEAR (38.4%)	LINEAR (67.9%)	BERNSTEIN (10.6%)
P DOSE RESPOSTA	81.7% ns	51.7% ns	99% ns	95.6% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: ABRIL DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	24	24	14	20.7		15	20	14	16.3		108	89	120	105.7		86	110	106	100.7	
25	25	22	22	23.0	1.11	30	23	20	24.3	1.49	120	130	112	120.7	1.14	129	117	151	132.3	1.31
50	36	36	35	35.7	1.73	29	41	29	33.0	2.02 *	123	130	118	123.7	1.17	115	97		106.0	1.05
100	28	33	22	27.7	1.34	39	36		37.5	2.30 *	119	100		109.5	1.04	156	165		160.5	1.59
200	26	29	41	32.0	1.55	37	19	28	28.0	1.71	137	83	75	98.3	0.93	128	133	118	126.3	1.25
(+)						230	271		250.5	15.3	528	544		536.0	5.07					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	3.1% *	1.5% *	54.5% ns	0.9% **
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (8.3%)	LINTOX2 (91.2%)	LINEAR (59.1%)	BERNSTEIN (8.5%)
P DOSE RESPOSTA	1% **	0.1% ***	85.5% ns	19.1% ns
REVERTENTES/ML	0.053	0.354	-	-
LIMITE CONF.	<0.018,0.088>	<0.205,0.504>	-	-
RESULTADO	INDICIOS	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A2 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 2 - TE1040
Continuação

Campanha: JUNHO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	26	26	20	24.0		27	40	34	33.7		138	177	128	147.7		183	115	182	160.0	
25	20	24	28	24.0	1.00	44	39	29	37.3	1.11	162	177	176	171.7	1.16	141	168	151	153.3	0.96
50	35	24	24	27.7	1.15	34	36	48	39.3	1.17	177	160	135	157.3	1.07	132	157	145	144.7	0.90
100	29	25	32	28.7	1.19	26	40	49	38.3	1.14	178	136	154	156.0	1.06	149	142	152	147.7	0.92
200	32	38	30	33.3	1.39	49	53	45	49.0	1.46	155	136	148	146.3	0.99	166	142	141	149.7	0.94
(+)						255	323		289.0	8.58	982	1168		1075	7.28					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	15.7% ns	34.1% ns	54.1% ns	89.8% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (91.4%)	LINEAR (88.5%)	LINEAR (47.5%)	LINEAR (84.2%)
P DOSE RESPOSTA	0.9% **	3% *	76.8% ns	6.7% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: AGOSTO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	37	28	32	32.3		39	34	35	36.0		241	185	221	215.7		229	191		210.0	
25	30	29	43	34.0	1.05	51	48		49.5	1.38	184	201	217	200.7	0.93	229	187	202	206.0	0.98
50	24	34	36	31.3	0.97	51	55	48	51.3	1.43	171	188	203	187.3	0.87	180	153	220	184.3	0.88
100	31	26	30	29.0	0.90	40	46	44	43.3	1.20	195	174	166	178.3	0.83	165	176	192	177.7	0.85
200	27	31	25	27.7	0.86	34	23		28.5	0.79	165	164	177	168.7	0.78	172	181		176.5	0.84
(+)											1342	1453		1398	6.48					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	57.8% ns	0.2% **	5.5% ns	41.4% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (91%)	LINTOX2 (6.9%)	LINEAR (55.5%)	LINEAR (65.7%)
P DOSE RESPOSTA	92.7% ns	0.2% **	99.6% ns	0.933 ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A3 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 3 - TE2400

Campanha: OUTUBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	56	34	39	43.0		53	50	48	52.4		173	136	123	144.0		117	147	147	137.0	
25	32	28	32			67	44													
50	32	28	32	30.7	0.71	60	54	55	56.3	1.08	178	165	143	162.0	1.13	144	109	135	129.3	0.94
100	35	28	50	37.7	0.88	43	64	56	54.3	1.04	140	143	139	140.7	0.98	198	178	170	182.0	1.33
200	36	38	31	35.0	0.81	60	44	65	56.3	1.08	118	118	132	122.7	0.85	182	139	126	149.0	1.09

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	34.4% ns	91% ns	87% ns	8.4% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (22.4%)	LINEAR (88.7%)	LINEAR (23%)	LINEAR (6.3%)
P DOSE RESPOSTA	67.7% ns	30.2% ns	97.9% ns	12% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: DEZEMBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	28	34	32	31.3		50	40	55	48.3		193	183	214	196.7		171	161	170	167.3	
25																				
50	34	35	36	35.0	1.12	61	56	50	55.7	1.15	222	174	198	198.0	1.01	176	170	164	170.0	1.02
100	32	40	48	40.0	1.28	49	55	57	53.7	1.11	198	175	161	178.0	0.91	162	174	149	161.7	0.97
200	35	36	34	35.0	1.12	47	32	41	40.0	0.83	160	210	183	184.3	0.94	179	146	159	161.3	0.96
(+)						233	191	215	213.0	4.41	734	817	699	750.0	3.81					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	16.3% ns	6.2% ns	61.4% ns	73.9% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (13.5%)	LINEAR (11.7%)	LINEAR (60.3%)	LINEAR (77.9%)
P DOSE RESPOSTA	13.1% ns	97.6% ns	80.4% ns	79.6% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A3 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 3 - TE2400

Continuação

Campanha: FEVEREIRO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	20	27	20	22.3		36	24	24	28.0		197	141	127	155.0		174	153	170	165.7	
25	35	30	34	33.0	1.48	22	18	31	23.7	0.85	136	129	132	132.3	0.85	147	153	169	156.3	0.94
50	28	27	22	25.7	1.15	22	28	28	26.0	0.93	120	140	141	133.7	0.86	117	130	141	129.3	0.78
100	33	26		29.5	1.32	27	22	23	24.0	0.86	146	129	145	140.0	0.90	155	136	147	146.0	0.88
200	43	55	41	46.3	2.07 *	31	37	36	34.7	1.24	110	122	131	121.0	0.78	150	153	127	143.3	0.87
(+)						335	273		304.0	10.9										

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	0.2% **	18.3% ns	27.8% ns	3.2% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (5.9%)	LINEAR (25.2%)	LINEAR (50%)	BERNSTEIN (79.1%)
P DOSE RESPOSTA	0.0% ***	5.9%) ns	95.3% ns	99.8% ns
REVERTENTES/ML	0.101	-	-	-
LIMITE CONF.	(0.07,0.136)	-	-	-
RESULTADO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: ABRIL DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	20	21	35	25.3		26	40		33.0		140	134	121	131.7		127	139	184	150.0	
25	32	24	29	28.3	1.12	29	26	26	27.0	0.82	156	160	174	163.3	1.24	140	119	128	129.0	0.86
50	19	21	30	23.3	0.92	36	33	38	35.7	1.08	159	140	155	151.3	1.15	148	137	135	140.0	0.93
100	27	28	27	27.3	1.08	41	33	30	34.7	1.05	152	128	157	145.7	1.11	175	158	132	155.0	1.03
200	32	26	23	27.0	1.07	27	33	38	32.7	0.99	179	127	125	143.7	1.09	131	132	151	138.0	0.92
(+)						368	419		393.5	11.9	904	921		912.5	6.93					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	79.8% ns	27.9% ns	32.4% ns	44.3% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (68.9%)	LINEAR (21.4%)	LINEAR (21.5%0	LINEAR (31.1%)
P DOSE RESPOSTA	36.2% ns	23.3% ns	47.8% ns	49.7% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A3 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 3 - TE2400
Continuação

Campanha: JUNHO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	33	26	27	28.7		39	33	26	32.7		174	144	165	161.0		163	120	149	144.0	
25	29	23	25	25.7	0.90	36	23	44	34.3	1.05	201	165	205	190.3	1.18	195	152		173.5	1.20
50	27	31		29.0	1.01	41	34	43	39.3	1.20	209	154	194	185.7	1.15	195	179	210	194.7	1.35
100	22	33	32	29.0	1.01	48	43	51	47.3	1.45	191	175		183.0	1.14	175	180	157	170.7	1.19
200	35	37	21	31.0	1.08	53	52	41	48.7	1.49	145	173		159.0	0.99	179	199	209	195.7	1.36
(+)						459	429		444.0	13.6	574	709		641.5	3.98					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	81.2% ns	8% ns	33.4% ns	4% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (86.1%)	LINEAR (66%)	LINEAR (25.5%)	LINEAR (10.8%)
P DOSE RESPOSTA	19.4% ns	0.5% **	0.735 ns	1.1% *
REVERTENTES/ML	-	-	-	0.202
LIMITE CONF.	-	-	-	<0.069,0.335>
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDICIOS

Campanha: AGOSTO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	37	28	32	32.3		39	34	35	36.0		241	185	221	215.7		229	191		210.0	
25	37	23	27	29.0	0.90	47	31	34	37.3	1.04	200	185	167	184.0	0.85	135	131	202	156.0	0.74
50	18	38	37	31.0	0.96	36	34	16	28.7	0.80	169	183	198	183.3	0.85	154	189	188	177.0	0.84
100	35	28	24	29.0	0.90	33			33.0	0.92	194	190		192.0	0.89	173	167	154	164.7	0.78
200	23	36	24	27.7	0.86	29	47		38.0	1.06	169	157	175	167.0	0.77	174	189		181.5	0.86
(+)											1342	1453		1398	6.48					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	94.5% ns	71.9% ns	7% ns	34.8% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (96.6%)	LINEAR (58.8%)	LINEAR (24.5%)	LINEAR (23.7%)
P DOSE RESPOSTA	74.1% ns	41% ns	0.989 ns	51.1% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A4 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 4 - CO2070

Campanha: OUTUBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	34	39	56	43.0		40	56	48	48.0		173	136	123	144.0		117	147	147	137.0	
25																				
50	40	68	81	63.0	1.47	45	46	47	46.0	0.96	191	161	198	183.3	1.27	159	151	156	155.3	1.13
100	45	50	60	51.7	1.20	39	43	49	43.7	0.91	147	182	154	161.0	1.12	167	150		158.5	1.16
200	51	73	53	59.0	1.37	35	53	60	49.3	1.03	137	146	190	157.7	1.09	121	141	175	145.7	1.06
(+)						250	244	136	210.0	4.38										

ANALISE ESTATISTICA				
P ANAL. VARIANCIA	31.5% ns	82% ns	33.3% ns	55% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (32.9%)	LINEAR (66.3%)	LINEAR (20.6%)	LINEAR (39.4%)
P DOSE RESPOSTA	12.1% ns	41.2% ns	37.9% ns	35.3% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: DEZEMBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	27	31	22	26.7		37	53	53	47.7		147	183	173	167.7		139	209	179	175.7	
25																				
50	39	43	41	41.0	1.54	53	53	39	48.3	1.01	170	179	126	158.3	0.94	153	178	185	172.0	0.98
100	36	37	38	37.0	1.39	59	46	49	51.3	1.08	202	167	199	189.3	1.13	162	153		157.5	0.90
200	29	37	46	37.3	1.40	59	63	54	58.7	1.23	212	153	227	197.3	1.18	130	181	190	167.0	0.95
(+)						369	233		301.0	6.31	1090	1230		1160	6.92					

ANALISE ESTATISTICA				
P ANAL. VARIANCIA	2.4% *	37.3% ns	32.9% ns	88.6% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINTOX1 (13.1%)	LINEAR (90.5%)	LINEAR (56.5%)	LINEAR (80.7%)
P DOSE RESPOSTA	0.3% **	5.2% ns	6.7% ns	66.2% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A4 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 4 - CO2070
Continuação

Campanha: FEVEREIRO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	32	18	26	25.3		34	39	41	38.0		153	157	186	165.3		191	163	173	175.7	
25	18	33	29	26.7	1.05	33	37	45	38.3	1.01	116	135	141	130.7	0.79	135	106	173	138.0	0.79
50	33	30	24	29.0	1.14	24	30	18	24.0	0.63	121	109	146	125.3	0.76	120	122	124	122.0	0.69
100	33	30	24	29.0	1.14	42	34	36	37.3	0.98	126	125	119	123.3	0.75	160	134	124	139.3	0.79
200	49	41	34	41.3	1.63	36	37	47	40.0	1.05	82	105	108	98.3	0.59	132	148	133	137.7	0.78
(+)						97	66		81.5	2.14	374	441		407.5	2.46					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	9.9% ns	1% **	0.4% **	0.5% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (46.1%)	BERNSTEIN (38.8%)	LINEAR (18.6%)	BERNSTEIN (6.6%)
P DOSE RESPOSTA	1% **	99.8% ns	100% ns	99.9% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: ABRIL DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-	
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TABELA A4 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 4 - CO2070
Continuação

Campanha: JUNHO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	33	26	27	28.7		39	33	26	32.7		174	144	165	161.0		163	120	149	144.0	
25	26	20	24	23.3	0.81	39	41		40.0	1.22	167	152	162	160.3	1.00	233	201	179	204.3	1.42
50	17	26		21.5	0.75	39	38	31	36.0	1.10	136	180	142	152.7	0.95	188	169	201	186.0	1.29
100	31	31	29	30.3	1.06	23	35	35	31.0	0.95	149	122		135.5	0.84	149	187	204	180.0	1.25
200	29	35		32.0	1.12	31	25	46	34.0	1.04	136	154	148	146.0	0.91	184	172	147	167.7	1.16
(+)						459	429		444.0	13.6	574	709		641.5	3.98					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	6.9% ns	73.9% ns	39.2%	6.8% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (9.2%)	LINEAR (61%)	LINEAR (51.2%)	LINTOX1 (8.9%)
P DOSE RESPOSTA	3.7% ns	60.8% ns	91.1%	0.1% ***
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: AGOSTO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	15	21	22	19.3		35	46	29	36.7		144	156	145	148.3		146	155		150.5	
25	37	36	24	32.3	1.67	45	35	38	39.3	1.07	148	138	160	148.7	1.00	150	174	152	158.7	1.05
50	24	34	40	32.7	1.69	30	32	28	30.0	0.82	136	137	143	138.7	0.93	154	164	135	151.0	1.00
100	38	32	32	34.0	1.76	59	41		50.0	1.36	170	113	128	137.0	0.92	190	145	149	161.3	1.07
200	40	29	24	31.0	1.60	39			39.0	1.06						116	158		137.0	0.91
(+)						139			139.0	3.79	1600			1600	10.8					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	3.4% *	14.5% ns	74.5% ns	67.2% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (5.5%)	LINEAR (10.4%)	LINEAR (87.6%)	LINEAR (68.6%)
P DOSE RESPOSTA	2.2% *	22.2% ns	82.5% ns	81.2% ns
REVERTENTES/ML	0.051	-	-	-
LIMITE CONF.	(0.011,0.091)	-	-	-
RESULTADO	INDICIOS	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A5 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 5 - PA2097

Campanha: OUTUBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	37	50	38	41.7		53	48	50	52.4		169	103	159	143.7		87	125	137	116.3	
25						67	44													
50	69	72	73	71.3	1.71	60	78	80	72.7	1.39	155	143	143	147.0	1.02	169	134	150	151.0	1.30
100	79	59	98	78.7	1.89	91	95	105	97.0	1.85	178	181	149	169.3	1.18	150	166		158.0	1.36
200	88	94	94	92.0	2.21 *	105	110	117	110.7	2.11 *	199	185		192.0	1.34	188	210	168	188.7	1.62

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	0.1 ***	0.0% ***	19.8% ns	2.8% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (9%)	LINEAR (17.1%)	LINEAR (83.3%)	LINEAR (58.3%)
P DOSE RESPOSTA	0.0 ***	0.0% ***	2.4% *	0.3% **
REVERTENTES/ML	0.266	0.32	-	0.353
LIMITE CONF.	(0.19,0.341)	(0.252,0.388)	-	(0.185,0.522)
RESULTADO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	INDICIOS

Campanha: DEZEMBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	27	31	22	26.7		37	53	53	47.7		147	183	173	167.7		139	209	179	175.7	
25																				
50	27	52	38	39.0	1.46	58	64	70	64.0	1.34	236	212	221	223.0	1.33	137	138		137.5	0.78
100	46	48	44	46.0	1.73	43	44	56	47.7	1.00	197	251	205	217.7	1.30	142	179		160.5	0.91
200	41	41	45	42.3	1.59	47	50	69	55.3	1.16	258	268	274	266.7	1.59	182	171		176.5	1.00
(+)						369	233		301.0	6.31	1090	1230		1160	6.92					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	2.4% *	19.1% ns	0.2% **	35.4% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (9.8%)	LINEAR (11.4%)	LINEAR (13.5%)	LINEAR (23.3%)
P DOSE RESPOSTA	0.6% **	30.9% ns	0.0% ***	36% ns
REVERTENTES/ML	0.083	-	0.467	-
LIMITE CONF.	(0.035.131)	-	(0.321,0.612)	-
RESULTADO	INDICIOS	NEGATIVO	INDICIOS	NEGATIVO

TABELA A5 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 5 - PA2097
Continuação

Campanha: FEVEREIRO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-	
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Campanha: ABRIL DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	24	24	14	20.7		15	20	14	16.3		108	89	120	105.7		86	110	106	100.7	
25	28	26	19	24.3	1.18	35	26	33	31.3	1.92	83	111	151	115.0	1.09	127	128		127.5	1.27
50	32	33	30	31.7	1.53	31	35	29	31.7	1.94	125	94	110	109.7	1.04	127	121	107	118.3	1.18
100	19	22	37	26.0	1.26	27	37	28	30.7	1.88	120	125		122.5	1.16	114	123	126	121.0	1.20
200	23	18	13	18.0	0.87	35	41	30	35.3	2.16 *	88	95	111	98.0	0.93	114	130	126	123.3	1.23
(+)						230	271		250.5	15.3	528	544		536.0	5.07					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	15.5% ns	0.1% **	69.9% ns	4.8% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (15.1%)	BERNSTEIN (22.5%)	LINEAR (66.3%)	LINEAR (8.3%)
P DOSE RESPOSTA	89.6% ns	0.0% ***	77% ns	2.2 *
REVERTENTES/ML	-	0.342	-	0.083
LIMITE CONF.	-	<0.226,0.457>	-	<0.018,0.149>
RESULTADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	INDICIOS

TABELA A5 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 5 - PA2097

Continuação

Campanha: JUNHO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	19	25	23	22.3		22	20	21	21.0		124	147	128	133.0		146	137	163	148.7	
25	26	48	26	33.3	1.49	28	17	21	22.0	1.05	146	128	145	139.7	1.05	145	156		150.5	1.01
50	36	36	35	35.7	1.60	44	44	30	39.3	1.87	142	163	126	143.7	1.08	192	154	157	167.7	1.13
100	37	32		34.5	1.54	38	35	22	31.7	1.51	126	185	157	156.0	1.17	157	110	167	144.7	0.97
200	34	30		32.0	1.43	45	48	50	47.7	2.27 *	141	141		141.0	1.06	127	146	155	142.7	0.96
(+)						266	321		293.5	14.0	537			537.0	4.04					

ANALISE ESTATISTICA

	TA98-S9	TA98+S9	TA100-S9	TA100+S9
P ANAL. VARIANCIA	11.8% ns	0.2% **	63.3% ns	62.9% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (12.9%)	LINEAR (7.1%)	LINEAR (57.5%)	LINEAR (58%)
P DOSE RESPOSTA	7% ns	0.0% ***	23.8% ns	77.2% ns
REVERTENTES/ML	-	0.132	-	-
LIMITE CONF.	-	<0.088,0.176>	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: AGOSTO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	35	19	28	27.3		28	30	28	28.7		142	138	166	148.7		129	103	121	117.7	
25	18	20		19.0	0.70	28	33	32	31.0	1.08	147	128	130	135.0	0.91	199	146	171	172.0	1.46
50	18	16	14	16.0	0.59	35	32	21	29.3	1.02	117	129	120	122.0	0.82	117	115	155	129.0	1.10
100	22	14	24	20.0	0.73	26	25	29	26.7	0.93	119	121	119	119.7	0.80	131	135	126	130.7	1.11
200	21	31	23	25.0	0.91	39	31	36	35.3	1.23	114	110	136	120.0	0.81	127	118	137	127.3	1.08
(+)						91			91.0	3.17	579			579.0	3.89					

ANALISE ESTATISTICA

	TA98-S9	TA98+S9	TA100-S9	TA100+S9
P ANAL. VARIANCIA	10.6% ns	21.3% ns	3.6% *	2.8% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (7.2%)	LINEAR (23.5%)	LINEAR (11.4%)	-
P DOSE RESPOSTA	22.6% ns	9.2% ns	99.1% ns	-
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A6 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 6 - PA2180

Campanha: OUTUBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	37	50	38	41.7		48	53	50	52.4		169	103	159	143.7		87	137	125	116.3	
25						67	44													
50	40	40	38	39.3	0.94	73	60	53	62.0	1.18	153	134	143	143.3	1.00	148	159	204	170.3	1.46
100	36	37		36.5	0.88	53	62	53	56.0	1.07	167	163	133	154.3	1.07	135	141	148	141.3	1.21
200	34	43		38.5	0.92	48	64	52	54.7	1.04	180	144	154	159.3	1.11	175	144	186	168.3	1.45

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	70.6% ns	53.9% ns	78.5% ns	5% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (67.3%)	LINEAR (36.4%)	LINEAR (93.3%)	LINEAR (10.4%)
P DOSE RESPOSTA	76.7% ns	40.9% ns	18.1% ns	2% *
REVERTENTES/ML	-	-	-	0.221
LIMITE CONF.	-	-	-	<0.054,0.387>
RESULTADO	**NEGATIVO**	**NEGATIVO**	**NEGATIVO**	**INDICIOS**

Campanha: DEZEMBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	27	31	22	26.7		37	53	53	47.7		147	183	173	167.7		139	209	179	175.7	
25																				
50	46	52	53	50.3	1.89	57	58	40	51.7	1.08	219	216	217	217.3	1.30	198	121		159.5	0.91
100	43	53	61	52.3	1.96	34	54	38	42.0	0.88	231	208	214	217.7	1.30	210	199		204.5	1.16
200	63	60	42	55.0	2.06 *	63	63	44	56.7	1.19	216	223	22	153.7	0.92	192	206		199.0	1.13
(+)						369	233		301.0	6.31	1090	1230		1160	6.92					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	0.1% ***	40.1% ns	0.1% ***	0.586 ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINTOX1 (31.2%)	LINEAR (30.2%)	LINTOX1 (15.1%)	LINEAR (58.4%)
P DOSE RESPOSTA	0.1% ***	24.3% ns	0.0 ***	18.9% ns
REVERTENTES/ML	0.791	-	-	-
LIMITE CONF.	<0.462,1.12>	-	-	-
RESULTADO	**POSITIVO**	**NEGATIVO**	**NEGATIVO**	**NEGATIVO**

TABELA A6 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 6 - PA2180
Continuação

Campanha: FEVEREIRO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	13	21	10	14.7		20	16	20	18.7		138	123	113	124.7		134	125	112	123.7	
25	17	23	21	20.3	1.39	22	20	37	26.3	1.41	116	122	100	112.7	0.90	110	124	133	122.3	0.99
50	23	27	16	22.0	1.50	13	18	27	19.3	1.04	121	103	129	117.7	0.94	95	133	154	127.3	1.03
100	20	19	27	22.0	1.50	21	30	24	25.0	1.34	103	78	107	96.0	0.77	119	81	140	113.3	0.92
200	22	26	33	27.0	1.84	25	24	26	25.0	1.34	131	138	131	133.3	1.07	115	118	131	121.3	0.98
(+)						192	228		210.0	11.3	468	457		462.5	3.71					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	10.6% ns	34% ns	3.4% *	93.6% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (57%)	LINEAR (37%)	BERNSTEIN (71.5%)	LINEAR (87.6%)
P DOSE RESPOSTA	0.9% **	11.6% ns	99.2% ns	61.8% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: ABRIL DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	27	22	30	26.3		20	31	31	27.3		156	122	146	141.3		124	123	101	116.0	
25	30	29	14	24.3	0.92	31	32	38	33.7	1.23	143	147	133	141.0	1.00	91	117		104.0	0.90
50	23	23	11	19.0	0.72	24	26	29	26.3	0.96	121	143	146	136.7	0.97	72	112	87	90.3	0.78
100	27	15	22	21.3	0.81	42	34	29	35.0	1.28	135	118	117	123.3	0.87	106	97	106	103.0	0.89
200	18	26	18	20.7	0.78	27	36	17	26.7	0.98	119	113		116.0	0.82	118	116	120	118.0	1.02

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	67% ns	37.9% ns	11.6% ns	17.2% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (62.9%)	LINEAR (26.6%)	LINEAR (85.3%)	LINEAR (13.3%)
P DOSE RESPOSTA	77.3% ns	62.3% ns	99.3% ns	18.5% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A6 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 6 - PA2180
Continuação

Campanha: JUNHO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	19	25	23	22.3		22	20	21	21.0		124	147	128	133.0		146	137	163	148.7	
25	23	34	21	26.0	1.16	20	48	36	34.7	1.65	121	158	158	145.7	1.10	144	146	154	148.0	1.00
50	34	34	45	37.7	1.69	48	47	47	47.3	2.25 *	166	158	179	167.7	1.26	153	159	149	153.7	1.03
100	33	37	47	39.0	1.75	42	52	44	46.0	2.19 *	124	126	107	119.0	0.89	146	164	147	152.3	1.02
200	42	28	29	33.0	1.48	35	38	31	34.7	1.65	149	101	125	125.0	0.94	99	108	102	103.0	0.69
(+)						266	321		293.5	14.0	537			537.0	4.04					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	3% *	0.2% **	5.2% ns	0.0% ***
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (6.1%)	LINTOX2 (34.2%)	LINEAR (5.6%)	LINTOX2 (48.6%)
P DOSE RESPOSTA	1.5% *	0.0% ***	94.6% ns	1.1% *
REVERTENTES/ML	0.057	0.477	-	-
LIMITE CONF.	(0.016,0.098)	(0.321,0.633)	-	-
RESULTADO	INDICIOS	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: AGOSTO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	15	21	22	19.3		35	46	29	36.7		144	156	145	148.3		146	155		150.5	
25	28	18	32	26.0	1.34	52	47	38	45.7	1.25	130	125	119	124.7	0.84	127	142		134.5	0.89
50	27	31		29.0	1.50	41			41.0	1.12	128	107	116	117.0	0.79	123	130	127	126.7	0.84
100	39	30	34	34.3	1.78	37	33		35.0	0.95	131	115	146	130.7	0.88	138	132	128	132.7	0.88
200	21	37	32	30.0	1.55	26			26.0	0.71	108	108	115	110.3	0.74	221	134		177.5	1.18
(+)						139			139.0	3.79	1600			1600	10.8					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	7.4% ns	21.8% ns	0.7% **	22.8% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (18.6%)	LINEAR (41.7%)	LINEAR (70.4%)	LINEAR (25.9%)
P DOSE RESPOSTA	1.6% *	96.2% ns	99.8% ns	8.7% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A7 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 7 - CA2200

Campanha: OUTUBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	37	50	38	41.7		53	48	50	52.4		169	103	159	143.7		87	125	137	116.3	
25						67	44													
50	74	56	53	61.0	1.46	58	73	67	66.0	1.26	136	127	163	142.0	0.99	137	148	136	140.3	1.21
100	35	79	38	50.7	1.22	54	37		45.5	0.87	144	132	171	149.0	1.04	150	126	133	136.3	1.17
200	47	52	44	47.7	1.14	34	53	46	44.3	0.85	183	161	114	152.7	1.06	154	133	154	147.0	1.26

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	46.5% ns	10.6% ns	96.4% ns	19.6% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (30.8%)	LINEAR (12.6%)	LINEAR (97.6%)	LINEAR (45.8%)
P DOSE RESPOSTA	38.9% ns	94% ns	32.7% ns	3.7% *
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: DEZEMBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	27	31	22	26.7		37	53	53	47.7		147	183	173	167.7		139	209	179	175.7	
25																				
50	113	103	130	115.3	4.32 *	167	163	141	157.0	3.29 *	250	230	240	240.0	1.43	225	222		223.5	1.27
100	143	187	164	164.7	6.18 *	187	198	209	198.0	4.15 *	202	232	247	227.0	1.35	174	204		189.0	1.08
200	170	195	177	180.7	6.78 *	196	197		196.5	4.12 *	228	239	245	237.3	1.42	259	226		242.5	1.38
(+)						369	233		301.0	6.31	1090	1230		1160	6.92					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	0% ***	0% ***	2.6% *	16.6% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINTOX2 (45.6%)	LINTOX1 (69.8%)	-	LINEAR (30.3%)
P DOSE RESPOSTA	0% ***	0% ***	-	4.1% *
REVERTENTES/ML	1.787	3.265	-	-
LIMITE CONF.	(1.541,2.034)	(2.667,3.863)	-	-
RESULTADO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A7 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 7 - CA2200
Continuação

Campanha: FEVEREIRO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	32	18	26	25.3		34	39	41	38.0		153	157	186	165.3		191	163	173	175.7	
25	30	32		31.0	1.22	33	26	28	29.0	0.76	105	122	117	114.7	0.69	124	165	115	134.7	0.77
50	36	34	31	33.7	1.33	39	38	50	42.3	1.11	98	143	129	123.3	0.75	137	159	143	146.3	0.83
100	44	37	52	44.3	1.75	39	33	31	34.3	0.90	145	100	144	129.7	0.78	146	152	126	141.3	0.80
200	45	36	43	41.3	1.63	35	64		49.5	1.30	119	139	163	140.3	0.85	150	156	151	152.3	0.87
(+)						97	66		81.5	2.14	374	441		407.5	2.46					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	1.5% *	8.8% ns	11.7% ns	11.2% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (17.%)	LINEAR (10.9%)	LINEAR (7%)	LINEAR (6.8%)
P DOSE RESPOSTA	0.1% ***	5% *	40.9% ns	62.1% ns
REVERTENTES/ML	(0.087)	-	-	-
LIMITE CONF.	<0.047,0.126>	-	-	-
RESULTADO	INDICIOS	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: ABRIL DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	27	18	17	20.7		29	24	26	26.3		96	107		101.5		-	-	-	-	-
25	19	21	23	21.0	1.02	31	20	18	23.0	0.87	117	111	150	126.0	1.24	-	-	-	-	-
50	18	24	22	21.3	1.03	42	29	27	32.7	1.24	105	114	116	111.7	1.10	-	-	-	-	-
100	33	32	28	31.0	1.50	22	33	24	26.3	1.00	103	161	137	133.7	1.32	-	-	-	-	-
200	29	23	28	26.7	1.29	26	17		21.5	0.82	136	97	123	118.7	1.17	-	-	-	-	-
(+)						303	236		269.5	10.2	412	457		434.5	4.28					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	3.8% *	38.9% ns	39.5% ns	-
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (12.2%)	LINEAR (32.9%)	LINEAR (32.2%)	-
P DOSE RESPOSTA	0.9% **	78.9% ns	23.5% ns	-
REVERTENTES/ML	(0.039)	-	-	-
LIMITE CONF.	<0.014,0.064>	-	-	-
RESULTADO	INDICIOS	NEGATIVO	NEGATIVO	-

TABELA A7 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 7 - CA2200
Continuação

Campanha: JUNHO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	33	26	27	28.7		39	33	26	32.7		174	144	165	161.0		163	120	149	144.0	
25	37	28	32	32.3	1.13	43	49	35	42.3	1.30	184	211	225	206.7	1.28	179	155		167.0	1.16
50	26	34	23	27.7	0.97	54	54	57	55.0	1.68	181	168	200	183.0	1.14	234	189	181	201.3	1.40
100	33	31	30	31.3	1.09	39	34	34	35.3	1.08	180	135	180	165.0	1.02	204	189	193	195.3	1.36
200	29	29		29.0	1.01	51	48	51	50.0	1.53	163	152		157.5	0.98	145	120	112	125.7	0.87
(+)						459	429		444.0	13.6	574	709		641.5	3.98					
ANALISE ESTATISTICA																				
P ANAL. VARIANCIA	51.5% ns					0.1% ***					8.5% ns					0.5% **				
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (46.7%)					BERNSTEIN (98%)					LINEAR (7.5%)					LINTOX2 (67.3%)				
P DOSE RESPOSTA	50% ns					0% ***					90.2% ns					0.1% ***				
REVERTENTES/ML	-					-					-					-				
LIMITE CONF.	-					-					-					-				
RESULTADO	NEGATIVO					NEGATIVO					NEGATIVO					NEGATIVO				

Campanha: AGOSTO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	20	19	25	21.3		28	35	37	33.3		169	138	181	162.7		140	147	146	144.3	
25	21	23	13	19.0	0.89	44	28	45	39.0	1.17						138	158	146	147.3	1.02
50	11	20	22	17.7	0.83	31			31.0	0.93	105	104	109	106.0	0.65	128	155		141.5	0.98
100	19	21	22	20.7	0.97	32	55	34	40.3	1.21	97	125	93	105.0	0.65	173	131	141	148.3	1.03
200	15	21	20	18.7	0.88															
(+)						107			107.0	3.21	1476			1476	9.07					
ANALISE ESTATISTICA																				
P ANAL. VARIANCIA	82.6% ns					68.6% ns					3.8% *					95.4% ns				
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (71.8%)					LINEAR (63.6%)					-					LINEAR (88.1%)				
P DOSE RESPOSTA	62% ns					23.9% ns					-					40.6% ns				
REVERTENTES/ML	-					-					-					-				
LIMITE CONF.	-					-					-					-				
RESULTADO	NEGATIVO					NEGATIVO					NEGATIVO					NEGATIVO				

TABELA A8 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 8 - EM1200

Campanha: OUTUBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	48	35	45	42.7		40	56	48	48.0		157	146	145	149.3		168	153	185	168.7	
25																				
50	25	26	30	27.0	0.63	25	51	41	39.0	0.81	188	166	179	177.7	1.19	150	191	204	181.7	1.08
100	33	26	32	30.3	0.71	53	46	41	46.7	0.97	187	174	221	194.0	1.30	143	185	173	167.0	0.99
200	34	34	34	34.0	0.80	65	39	30	44.7	0.93	157	156	178	163.7	1.10	175	168	142	161.7	0.96
(+)						250	244	136	210.0	4.38	825	699	720	748.0	5.01					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	1.7% *	80.5% ns	2.6% *ns	71.5% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	-	LINEAR (62.8%)	LINTOX2 (79.4%)	LINEAR (65.9%)
P DOSE RESPOSTA	-	49.2% ns	0.2% **	75.3% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: DEZEMBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	29	39	33	33.7		38	46	45	43.0		160	148	190	166.0		144	144	150	146.0	
25																				
50	28	43	39	36.7	1.09	29	28	27	28.0	0.65	146	191	175	170.7	1.03	128	162	156	148.7	1.02
100	17	35	43	31.7	0.94	41	46	38	41.7	0.97	165	200	153	172.7	1.04	151	187	168	168.7	1.16
200	38	31	44	37.7	1.12	35	38	35	36.0	0.84	129	157	184	156.7	0.94	134	142	144	140.0	0.96

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	83.5% ns	0% ***	84.7% ns	12.5% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (71%)	-	LINEAR (79.8%)	LINEAR (7.2%)
P DOSE RESPOSTA	35.9 ns	-	71.2 ns	70.5% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A8 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 8 - EM1200
Continuação

Campanha: FEVEREIRO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	20	27	20	22.3		36	24	24	28.0		197	141	127	155.0		174	153	170	165.7	
25	55	47	55	52.3	2.34 *	23	32	24	26.3	0.94	146	131	122	133.0	0.86	162	147	147	152.0	0.92
50	112	91	92	98.3	4.40 *	56	43	45	48.0	1.71	129	118	104	117.0	0.75	152	164	167	161.0	0.97
100	95	102	96	97.7	4.37 *	47	58	48	51.0	1.82	139	148	174	153.7	0.99	135	152	149	145.3	0.88
200	83	91	78	84.0	3.76 *	78	70	90	79.3	2.83 *	116	130	118	121.3	0.78	157	149	148	151.3	0.91
(+)						335	273		304.0	10.9										

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	0% ***	0% ***	10.5% ns	9.3% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	BERNSTEIN (37.3%)	LINEAR (7.8%)	LINEAR (8.7%)	LINEAR (12.4%)
P DOSE RESPOSTA	0% ***	0% ***	87% ns	95.3% ns
REVERTENTES/ML	1.413	0.27	-	-
LIMITE CONF.	⟨1.241,1.584⟩	⟨0.212,0.327⟩	-	-
RESULTADO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: ABRIL DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	27	18	17	20.7		29	24	26	26.3		96	107		101.5		111	113	109	111.0	
25	21	31	21	24.3	1.18	33	40	29	34.0	1.29	119	101	91	103.7	1.02	122	133	139	131.3	1.18
50	22	16	27	21.7	1.05	40	21	23	28.0	1.06	121	105	90	105.3	1.04	138	121	142	133.7	1.20
100	20	34	44	32.7	1.58	29	22	24	25.0	0.95	115	93	133	113.7	1.12	150	126	158	144.7	1.30
200	17	22	17	18.7	0.90	37	20	20	25.7	0.97	112	106	118	112.0	1.10	127	126	121	124.7	1.12
(+)						303	236		269.5	10.2	412	457		434.5	4.28					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	22.7^ ns	65.2% ns	81.9% ns	1.3% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (16%)	LINEAR (58.8%	LINEAR (92.5%)	LINTOX2 (52.5%)
P DOSE RESPOSTA	72.8% ns	75.3% ns	16.6% ns	0% ***
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A8 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 8 - EM1200

Continuação

Campanha: JUNHO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	26	26	20	24.0		27	40	34	33.7		138	177	128	147.7		183	115	182	160.0	
25	32	32		32.0	1.33	25	39	49	37.7	1.12	153	208	140	167.0	1.13	170	133	160	154.3	0.96
50	27	32	33	30.7	1.28	36	36	50	40.7	1.21	136	141	147	141.3	0.96	131	139	176	148.7	0.93
100	21	22	23	22.0	0.92	42	43	40	41.7	1.24	137	122	150	136.3	0.92	127	177	110	138.0	0.86
200	33	18	25	25.3	1.06	26	39	36	33.7	1.00	126	132	130	129.3	0.88	123	98	101	107.3	0.67
(+)						255	323		289.0	8.58	982	1168		1075	7.28					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	12% ns	61.3% ns	28.8% ns	14% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (8%)	LINEAR (47.5%)	LINEAR (51.9%)	LINEAR (99.6%)
P DOSE RESPOSTA	75% ns	60.6% ns	95.2% ns	99.3% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: AGOSTO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	33	37	32	34.0		40	42	40	40.7		151	139	166	152.0		178	162	162	167.3	
25	31	36	32	33.0	0.97	47	40	53	46.7	1.15	169	145	159	157.7	1.04	216	174	197	195.7	1.17
50	44	28	19	30.3	0.89	38	51	43	44.0	1.08	217	153	165	178.3	1.17	229	186	173	196.0	1.17
100	37	23	31	30.3	0.89	42	46	41	43.0	1.06	151	165	164	160.0	1.05	181	149	158	162.7	0.97
200	35	35	37	35.7	1.05	37	43	43	41.0	1.01	169	138	144	150.3	0.99	235	140	139	171.3	1.02
(+)						322	377		349.5	8.59										

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	85.4% ns	51.9% ns	44.6% ns	56.4% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (76%)	LINEAR (42.6%)	LINEAR (34.2%)	LINEAR (45.9%)
P DOSE RESPOSTA	36.6% ns	72.8% ns	69.9% ns	70.3% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A9 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 9 - GR2100

Campanha: OUTUBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	48	35	45	42.7		40	56	48	48.0		157	146	145	149.3		168	153	185	168.7	
25																				
50	42	38	38	39.3	0.92	42	39	26	35.7	0.74	139	191	196	175.3	1.17	180	177	179	178.7	1.06
100	41	35	35	37.0	0.87	56	44	31	43.7	0.91	164	151	192	169.0	1.13	179	162	179	173.3	1.03
200	29	39	27	31.7	0.74	52	46	38	45.3	0.94	155	178	171	168.0	1.13	126	158	155	146.3	0.87
(+)						250	244	136	210.0	4.38	825	699	720	748.0	5.01					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	20.7% ns	40.4% ns	41.5% ns	6.2% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (46.7%)	LINEAR (25.9%)	LINEAR (36.4%)	LINEAR (20.5%)
P DOSE RESPOSTA	96% ns	38.2% ns	18.5% ns	98.6% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: DEZEMBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	28	34	32	31.3		50	40	55	48.3		193	183	214	196.7		171	161	170	167.3	
25																				
50	29	30	31	30.0	0.96	43	35	45	41.0	0.85	142	107	133	127.3	0.65	155	130	148	144.3	0.86
100	33	23	31	29.0	0.93	44	44	43	43.7	0.90	134	116	131	127.0	0.65	160	166	169	165.0	0.99
200	36	23	24	27.7	0.88	56	56	69	60.3	1.25	104	116	107	109.0	0.55	190	138	190	172.7	1.03
(+)						233	191	215	213.0	4.41	734	817	699	750.0	3.81					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	82.3% ns	2.3% *	1.8% *	20.7% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (98.7%)	BERNSTEIN (44.7%)	-	LINEAR (16.5%)
P DOSE RESPOSTA	81.2% ns	81.7% ns	- ns	15.6% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A9 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 9 - GR2100
Continuação

Campanha: FEVEREIRO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	20	27	20	22.3		36	24	24	28.0		197	141	127	155.0		174	153	170	165.7	
25	23	13	19	18.3	0.82	29	24	21	24.7	0.88	144	141	127	137.3	0.89	188	144		166.0	1.00
50	20	26	32	26.0	1.16	27	33	33	31.0	1.11	139	126	117	127.3	0.82	153	144	164	153.7	0.93
100	27	19	17	21.0	0.94	35	26	26	29.0	1.04	125	158	125	136.0	0.88	152	136	156	148.0	0.89
200	25	23	30	26.0	1.16	22	26	31	26.3	0.94	106	114	110	110.0	0.71	156	155	125	145.3	0.88
(+)						335	273		304.0	10.9										

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	30.4% ns	59.9% ns	5.9% ns	40.2% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (31%)	LINEAR (45.3%)	LINEAR (50.2%)	LINEAR (87.4%)
P DOSE RESPOSTA	12.5% ns	55.4% ns	99.6% ns	95.9% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: ABRIL DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	20	21	35	25.3		26	40		33.0		140	134	121	131.7		127	139	184	150.0	
25	31	24	22	25.7	1.01	35	33	33	33.7	1.02	164	205	198	189.0	1.44	159	180		169.5	1.13
50	29	39	30	32.7	1.29	34	26	39	33.0	1.00	189	193	131	171.0	1.30	123	172		147.5	0.98
100	31	22	29	27.3	1.08	26	33	27	28.7	0.87	151	171	159	160.3	1.22	139	149	167	151.7	1.01
200	37	27	25	29.7	1.17	50	30	33	37.7	1.14	139	146	159	148.0	1.12	120	144	132	132.0	0.88
(+)						368	419		393.5	11.9	904	921		912.5	6.93					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	62.6% ns	62.6% ns	3.4% *	51.5% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (57.8%)	LINEAR (52.7%)	BERNSTEIN (14.5%)	LINEAR (71.5%)
P DOSE RESPOSTA	22.6% ns	29.4% ns	0.8% **	90.9% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A9 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 9 - GR2100
Continuação

Campanha: JUNHO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	26	26	20	24.0		27	40	34	33.7		138	177	128	147.7		183	115	182	160.0	
25	25	35	23	27.7	1.15	44	33	38	38.3	1.14	135	146	129	136.7	0.93	125	150	133	136.0	0.85
50	23	19	18	20.0	0.83	37	39		38.0	1.13	142	147	146	145.0	0.98	170	138	148	152.0	0.95
100	30	25	29	28.0	1.17	52	49	23	41.3	1.23	190	154	130	158.0	1.07	135	177	144	152.0	0.95
200	33	31	20	28.0	1.17	37	44	39	40.0	1.19	152	154	165	157.0	1.06	152	132	136	140.0	0.88
(+)						255	323		289.0	8.58	982	1168		1075	7.28					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	16.5% ns	81.5% ns	59.1% ns	66.4% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (15.6%)	LINEAR (86.2%)	LINEAR (71.5%)	LINEAR (57.4%)
P DOSE RESPOSTA	11.2% ns	19.8% ns	12.2% ns	71.5% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: AGOSTO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	33	37	32	34.0		40	42	40	40.7		151	139	166	152.0		178	162	162	167.3	
25	20	46	30	32.0	0.94	36	37	42	38.3	0.94	194	142	174	170.0	1.12	192	194	194	193.3	1.16
50	16	36	27	26.3	0.77	41	36	45	40.7	1.00	149	145	158	150.7	0.99	196	198	215	203.0	1.21
100	27	42	31	33.3	0.98	30	52	30	37.3	0.92	194	183	203	193.3	1.27	211	169	225	201.7	1.21
200	27	49	13	29.7	0.87	24	28	28	26.7	0.66	171	179	160	170.0	1.12	146	145	252	181.0	1.08
(+)						322	377		349.5	8.59										

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	91.7% ns	4.8% *	3.8% *	59.6% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (83.1%)	LINEAR (73.3%)	BERNSTEIN (13.6%)	LINEAR (45.4%
P DOSE RESPOSTA	57.7% ns	99.7% ns	0.9% **	41.8% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A10 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 10 - PR2050

Campanha: OUTUBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	56	34	39	43.0		40	56	48	48.0		173	136	123	144.0		117	147	147	137.0	
25																				
50	31	36	35	34.0	0.79	40	54	55	49.7	1.03	170	136	155	153.7	1.07	166	149	179	164.7	1.20
100	24	39	37	33.3	0.78	53	43	48	48.0	1.00	161	169	159	163.0	1.13	163	174	139	158.7	1.16
200	35	33	32	33.3	0.78	37	36	49	40.7	0.85	115	127	139	127.0	0.88	123	168	128	139.7	1.02
(+)						250	244	136	210.0	4.38										

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	37% ns	43.1% ns	12.7% ns	29.1% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (41.6%)	LINEAR (71.8%)	LINEAR (14.1%)	LINEAR (17.3%)
P DOSE RESPOSTA	88.2% ns	92% ns	92.9% ns	58% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: DEZEMBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	27	31	22	26.7		37	53	53	47.7		147	183	173	167.7		139	209	179	175.7	
25																				
50	45	32		38.5	1.44	35	42	40	39.0	0.82	196	209	189	198.0	1.18	175	167	206	182.7	1.04
100	33	53	44	43.3	1.63	55	49	55	53.0	1.11	228	197	190	205.0	1.22	211	212		211.5	1.20
200	40	52	45	45.7	1.71	47	41	49	45.7	0.96	197	250	216	221.0	1.32	205	207		206.0	1.17
(+)						369	233		301.0	6.31	1090	1230		1160	6.92					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	3.6% *	4.8% *	4.6% *	40.5% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (32.9%)	-	LINEAR (47%)	LINEAR (64%)
P DOSE RESPOSTA	0.5% **	-	0.5% **	8.4% ns
REVERTENTES/ML	0.1	-	0.256	-
LIMITE CONF.	<0.046,0.153>	-	<0.113,0.4>	-
RESULTADO	INDICIOS	NEGATIVO	INDICIOS	NEGATIVO

TABELA A10 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 10 - PR2050
Continuação

Campanha: FEVEREIRO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	32	18	26	25.3		34	39	41	38.0		153	157	186	165.3		191	163	173	175.7	
25	29	33	25	29.0	1.14	37	41	35	37.7	0.99	129	95	111	111.7	0.68	138	138	136	137.3	0.78
50	36	42	38	38.7	1.53	46	41	39	42.0	1.11	80	100	111	97.0	0.59	145	122	150	139.0	0.79
100	44	50	53	49.0	1.93	43	48	58	49.7	1.31	110	65	91	88.7	0.54	133	139	103	125.0	0.71
200	68	75	68	70.3	2.78 *	57	56	63	58.7	1.54	64	102	105	90.3	0.55	118	146	142	135.3	0.77
(+)						97	66		81.5	2.14	374	441		407.5	2.46					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	0.0% ***	0.2% **	2.1% *	2.8% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (79%)	LINEAR (71.7%)	BERNSTEIN (19.6%)	BERNSTEIN (22.1%
P DOSE RESPOSTA	0.0 ***	0.0% ***	99.6% ns	99.7% ns
REVERTENTES/ML	0.232	0.112	-	-
LIMITE CONF.	<0.187,0.277	<0.079,0.145>	-	-
RESULTADO	POSITIVO	INDICIOS	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: ABRIL DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	27	18	17	20.7		29	24	26	26.3		140	134	121	131.7		111	113	109	111.0	
25	16	22	18	18.7	0.90	34	31	28	31.0	1.18	93	108	98	99.7	0.76	142	99	146	129.0	1.16
50	23	17	15	18.3	0.89	48	30	40	39.3	1.49	118	102	110	110.0	0.84	142	121	141	134.7	1.21
100	29	19	19	22.3	1.08	28	24	33	28.3	1.08	107	92	128	109.0	0.83	141	132	124	132.3	1.19
200	18	22	26	22.0	1.06	29	35	33	32.3	1.23	79	128	98	101.7	0.77	108	148	153	136.3	1.23
(+)						303	236		269.5	10.2	904	921		912.5	6.93					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	73.8% ns	7.1% ns	22.5% ns	34.7% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (75.2%)	BERNSTEIN (95.7%)	LINEAR (22%)	LINEAR (49.6%)
P DOSE RESPOSTA	20% ns	0.4% **	87.9% ns	7.3% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A10 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 10 - PR2050
Continuacão

Campanha: JUNHO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	34	39	41	38.0		39	33	26	32.7		124	147	128	133.0		163	120	149	144.0	
25	23	35	30	29.3	0.77	41	30	40	37.0	1.13	156	127		141.5	1.06	267	225	253	248.3	1.72
50	29	34	37	33.3	0.88	35	37	43	38.3	1.17	138	126		132.0	0.99	226	236	248	236.7	1.64
100	29	28	30	29.0	0.76	49	43		46.0	1.41	121	135		128.0	0.96	207	206	235	216.0	1.50
200	19	21	26	22.0	0.58	36	40	48	41.3	1.27	138	139		138.5	1.04	206	187	210	201.0	1.40
(+)						459	429		444.0	13.6	537			537.0	4.04					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	0.6% **	21.5% ns	80.6% ns	1.6% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (26.2%)	LINEAR (40.1%)	LINEAR (68.4%)	-
P DOSE RESPOSTA	100% ns	4.0 *	44.5% ns	-
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: AGOSTO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	35	19	29	27.7		28	30	28	28.7		142	138	166	148.7		229	103	121	151.0	
25	23	27	20	23.3	0.84	30	37	25	30.7	1.07	221	178	147	182.0	1.22	195	159	178	177.3	1.17
50	25	16	33	24.7	0.89	34	27	27	29.3	1.02	116	211	153	160.0	1.08	206	186	166	186.0	1.23
100	31	23	26	26.7	0.96	31	30	31	30.7	1.07	184	145	138	155.7	1.05	130	146	182	152.7	1.01
200	25	16		20.5	0.74	39	22	33	31.3	1.09	182	115		148.5	1.00	170	113		141.5	0.94
(+)						91			91.0	3.17	579			579.0	3.89					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	72.2% ns	96 ns	81% ns	70.1% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (76.7%)	LINEAR (97%)	LINEAR (71.2%)	LINEAR (65.7%)
P DOSE RESPOSTA	82.1% ns	28.3% ns	65.2% ns	76.1% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A11 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 11 - MG2150

Campanha: OUTUBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	37	50	38	41.7		53	48	50	52.4		169	103	159	143.7		87	125	137	116.3	
							44	67												
50	61	50	59	56.7	1.36	58	61	71	63.3	1.21	141	174	148	154.3	1.07	145	125	151	140.3	1.21
100	62	47		54.5	1.31	67	52	50	56.3	1.08	167	134	127	142.7	0.99	167	181	171	173.0	1.49
200	63	68	43	58.0	1.39	48	88	86	74.0	1.41	132	185	134	150.3	1.05	113	201	190	168.0	1.44

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	16.5% ns	17.9% ns	94.4% ns	10.2% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (33%)	LINEAR (47.9%)	LINEAR (84.4%)	LINEAR (38.7%)
P DOSE RESPOSTA	3.9% *	3.1% *	44.1% ns	1.7% *
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: DEZEMBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	27	31	22	26.7		37	53	53	47.7		147	183	173	167.7		139	209	179	175.7	
25																				
50	62	48		55.0	2.06 *	65	56	67	62.7	1.31	182	170	215	189.0	1.13	197	202		199.5	1.14
100	72	57	57	62.0	2.33 *	56	52		54.0	1.13	192	186	208	195.3	1.17	168	172		170.0	0.97
200	54	64	66	61.3	2.30 *	69	54	59	60.7	1.27	168	224	171	187.7	1.12	183	189		186.0	1.06
(+)						369	233		301.0	6.31	1090	1230		1160	6.92					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	0.0% ***	13% ns	47.3% ns	62.5% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINTOX1 (62.7%)	LINEAR (16.5%)	LINEAR (46.1%)	LINEAR (45.4%)
P DOSE RESPOSTA	0.1 ***	5.8% ns	16.7% ns	42.3% ns
REVERTENTES/ML	0.932	-	-	-
LIMITE CONF.	<0.588,1.276>	-	-	-
RESULTADO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A11 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 11 - MG2150
Continuação

Campanha: FEVEREIRO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	32	18	26	25.3		34	39	41	38.0		153	157	186	165.3		191	163	173	175.7	
25	46	47	33	42.0	1.66	44	47	51	47.3	1.25	115	114	90	106.3	0.64	90	128	115	111.0	0.63
50	39	50		44.5	1.76	74	53	54	60.3	1.59	134	133	112	126.3	0.76	144	113	108	121.7	0.69
100	73	87	51	70.3	2.78 *	55	78	70	67.7	1.78	107	111	108	108.7	0.66	171	146	134	150.3	0.86
200	105	84	88	92.3	3.64 *	69	99	82	83.3	2.19 *	127	127	132	128.7	0.78	107	113	112	110.7	0.63
(+)						97	66		81.5	2.14	374	441		407.5	2.46					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	0% ***	0.1% ***	0.4% **	4.7% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (47.4%)	LINEAR (39.2%)	-	-
P DOSE RESPOSTA	0% ***	0% ***	-	-
REVERTENTES/ML	0.355	0.234	-	-
LIMITE CONF.	(0.27, 0.441)	(0.168, 0.301)	-	-
RESULTADO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: ABRIL DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	27	18	18	21.0		29	24	26	26.3		140	134	121	131.7		111	113	109	111.0	
25	22	17	22	20.3	0.97	29	21	32	27.3	1.04	130	122	130	127.3	0.97	120	129	117	122.0	1.10
50	21	18	28	22.3	1.06	46	35	32	37.7	1.43	129	112	115	118.7	0.90	144	129	102	125.0	1.13
100	29	19	33	27.0	1.29	27	23	22	24.0	0.91	138	112	137	129.0	0.98	132	124	123	126.3	1.14
200	27	22	26	25.0	1.19	33	23	21	25.7	0.97	124	125	129	126.0	0.96	121	111	97	109.7	0.99
(+)						303	236		269.5	10.2	904	921		912.5	6.93					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	47.3% ns	11.2% ns	50.4% ns	27.8 ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (66.7%)	LINEAR (7.9%)	LINEAR (36.9%)	LINEAR (20.8%)
P DOSE RESPOSTA	8.4% ns	79.5% ns	58.9% ns	74.9% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A11 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 11 - MG2150
Continuação

Campanha: JUNHO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	34	39	41	38.0		39	33	26	32.7		158	177	182	172.3		163	120	149	144.0	
25	48	37	34	39.7	1.04	48	54	51	51.0	1.56	246	227		236.5	1.37	235	259	250	248.0	1.72
50	25	26	37	29.3	0.77	42	55	49	48.7	1.49	254	216	181	217.0	1.26	242	267	234	247.7	1.72
100	33	34	34	33.7	0.89	47	61	44	50.7	1.55	250	213	226	229.7	1.33	229	226	254	236.3	1.64
200	24	24	29	25.7	0.68	55	35	45	45.0	1.38	195	200	205	200.0	1.16	201	186	187	191.3	1.33
(+)						459	429		444.0	13.6										

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	2.3% *	3.3% *	2.4% *	1.9% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (18%)	LINTOX1 (30.7%)	LINTOX1 (11.8%)	-
P DOSE RESPOSTA	99.7% ns	0.1% ***	0% ***	-
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	**NEGATIVO**	**NEGATIVO**	**NEGATIVO**	**NEGATIVO**

Campanha: AGOSTO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	22	20	22	21.3		26	35	27	29.3		138	155	137	143.3		146	158	181	161.7	
25	22	26	36	28.0	1.31	24	37	35	32.0	1.09	116	192	146	151.3	1.06	183	159	140	160.7	0.99
50	16	25	29	23.3	1.09	34	36	36	35.3	1.20	194	138	167	166.3	1.16	187	184	190	187.0	1.16
100	35	26	26	29.0	1.36	40	32	39	37.0	1.26	191	155	166	170.7	1.19	153	154	148	151.7	0.94
200	22	26	28	25.3	1.19	28	26	34	29.3	1.00	167	154	164	161.7	1.13	149	131	118	132.7	0.82

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	36.4% ns	26.9% ns	60.8% ns	1.5% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (30.4%)	LINEAR (17.8%)	LINEAR (62.7%)	LINEAR (9.5%)
P DOSE RESPOSTA	21.1% ns	60.4% ns	17.1% ns	99.7% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	**NEGATIVO**	**NEGATIVO**	**NEGATIVO**	**NEGATIVO**

TABELA A12 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 12 - CR2500

Campanha: OUTUBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	56	34	39	43.0		40	56	48	48.0		173	136	123	144.0		117	147	147	137.0	
25																				
50	32	42	30	34.7	0.81	33	42		37.5	0.78	172	137	162	157.0	1.09	168	135	181	161.3	1.18
100	33	23	40	32.0	0.74	31	46	44	40.3	0.84	140	137	140	139.0	0.97	132	195	167	164.7	1.20
200	29	35	50	38.0	0.88	28	55	46	43.0	0.90	161	176	140	159.0	1.10	162	172	182	172.0	1.26
(+)						250	244	136	210.0	4.38										

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	56.4% ns	67.9% ns	49.2% ns	26.8% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (40.2%)	LINEAR (50.7%)	LINEAR (38.8%)	LINEAR (59.6%
P DOSE RESPOSTA	63.9% ns	60.3% ns	25.1% ns	4.7% *
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: DEZEMBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	27	31	22	26.7		37	53	53	47.7		147	183	173	167.7		139	209	179	175.7	
25																				
50	56	39	37	44.0	1.65	42	37		39.5	0.83	218	231	226	225.0	1.34	169	165		167.0	0.95
100	32	38	56	42.0	1.58	45	38	40	41.0	0.86	182	188	189	186.3	1.11	187	189		188.0	1.07
200	39	38	34	37.0	1.39	50	43	43	45.3	0.95	192	194	219	201.7	1.20	214	205		209.5	1.19
(+)						369	233		301.0	6.31	1090	1230		1160	6.92					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	7% ns	38.5% ns	0.4% **	39.4% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (6.9%)	LINEAR (24%)	-	LINEAR (67.7)
P DOSE RESPOSTA	6.6% ns	53.4% ns	-	7.7% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A12 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 12 - CR2500
Continuação

Campanha: FEVEREIRO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	32	18	26	25.3		34	39	41	38.0		153	157	186	165.3		191	163	173	175.7	
25	29	30	32	30.3	1.20	36	46	61	47.7	1.25	139	130	132	133.7	0.81	131	153	146	143.3	0.82
50	41	46	38	41.7	1.64	49	50	61	53.3	1.40	80	97	131	102.7	0.62	131	135	152	139.3	0.79
100	54	56	66	58.7	2.32 *	71	50	57	59.3	1.56	153	112	127	130.7	0.79	152	124	141	139.0	0.79
200	51	60	68	59.7	2.36 *	69	56	63	62.7	1.65						156	125	170	150.3	0.86
(+)						97	66		81.5	2.14	374	441		407.5	2.46					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	0.0% ***	2.5% *	3,6% *	10.4% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINTOX2 (38.5%)	LINEAR (35.3%)	LINEAR (100%)	LINEAR (7.1%)
P DOSE RESPOSTA	0.0% ***	0.2% **	99.7% ns	77.9% ns
REVERTENTES/ML	0.394	0.122	-	-
LIMITE CONF.	<0.268,0.52>	<0.063,0.181>	-	-
RESULTADO	POSITIVO	INDICIOS	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: ABRIL DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
uL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	24	24	14	20.7		-	-	-	-		108	89	120	105.7		-	-	-	-	
25	26	27	29	27.3	1.32	-	-	-	-	-	125	137	101	121.0	1.15	-	-	-	-	-
50	26	28	19	24.3	1.18	-	-	-	-	-	110	118	103	110.3	1.04	-	-	-	-	-
100	33	26	23	27.3	1.32	-	-	-	-	-	152	137	161	150.0	1.42	-	-	-	-	-
200	24	19	25	22.7	1.10	-	-	-	-	-						-	-	-	-	-
(+)											528	544		536.0	5.07					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	33.3% ns	-	3.1% *	-
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (22.3%)	-	LINEAR (17.8%)	-
P DOSE RESPOSTA	45% ns	-	0.6% **	-
REVERTENTES/ML	-	-	0.382	-
LIMITE CONF.	-	-	<0.164,0.600>	-
RESULTADO	NEGATIVO	-	INDICIOS	-

TABELA A12 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 12 - CR2500
Continuação

Campanha: JUNHO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	26	26	20	24.0		27	40	34	33.7		138	177	128	147.7		183	115	182	160.0	
25	29	29	27	28.3	1.18	40	44	28	37.3	1.11	180	126	155	153.7	1.04	161	171	172	168.0	1.05
50	31	23	25	26.3	1.10	37	39	37	37.7	1.12	172	168	152	164.0	1.11	168	177	128	157.7	0.99
100	27	14	24	21.7	0.90	45	38	42	41.7	1.24	150	158		154.0	1.04	191	151	126	156.0	0.98
200	45	29	34	36.0	1.50	38	55	29	40.7	1.21	132	145	145	140.7	0.95	113	113	103	109.7	0.69
(+)						255	323		289.0	8.58	982	1168		1075	7.28					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	9.4% ns	71.7% ns	65.8% ns	4.9% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (10.7%)	LINEAR (86.3%)	LINEAR (64.6%)	LINEAR (67.4%)
P DOSE RESPOSTA	6.4% ns	13.4% ns	79.8% ns	99.7% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: AGOSTO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	15	21	22	19.3		35	46	29	36.7		144	156	145	148.3		146	155		150.5	
25	23	29	21	24.3	1.26	45	32	24	33.7	0.92	144	118	142	134.7	0.91	147	169	137	151.0	1.00
50	26	35	23	28.0	1.45	25	41	31	32.3	0.88	140	121	156	139.0	0.94	147	144	167	152.7	1.01
100	25	21	37	27.7	1.43	28	24	41	31.0	0.85	108	149	151	136.0	0.92	129	158	123	136.7	0.91
200	23	24	38	28.3	1.47	33	40		36.5	1.00	123	130	158	137.0	0.92	141	142		141.5	0.94
(+)						139			139.0	3.79	1600			1600	10.8					

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	30.7% ns	92.1% ns	88.8% ns	61.3% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (52.2%)	LINEAR (83%)	LINEAR (82.8%)	LINEAR (69.2%)
P DOSE RESPOSTA	5.3% ns	51.7% ns	67.4% ns	85.6% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A13 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 13 - JA2800

PONTO:RIO JAGUARI - JA2800

Campanha: OUTUBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	56	34	39	43.0		40	56	48	48.0		173	136	123	144.0		117	147	147	137.0	
25																				
50	34	42	33	36.3	0.84	50	53	38	47.0	0.98	156	163	153	157.3	1.09	146	152	128	142.0	1.04
100	29	48		38.5	0.90	37	44	43	41.3	0.86	147	153	200	166.7	1.16	172	151	162	161.7	1.18
200	34	31	27	30.7	0.71	47	31	36	38.0	0.79	171	181	158	170.0	1.18	130	151	98	126.3	0.92
(+)						250	244	136	210.0	4.38										

ANALISE ESTATISTICA

P ANAL. VARIANCIA	37.2% ns	33.1% ns	44.2% ns	23.2% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (77.6%)	LINEAR (87.4%)	LINEAR (78.6%)	LINEAR (16.2%)
P DOSE RESPOSTA	94% ns	95.5% ns	7.6% ns	78.4% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: DEZEMBRO DE 1987

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- Nao testado

TABELA A13 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 13 - JA2800
Continuação

Campanha: FEVEREIRO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	32	18	26	25.3		34	39	41	38.0		153	157	186	165.3		191	163	173	175.7	
25	49	56	51	52.0	2.05 *	73	62	34	56.3	1.48	135	126	105	122.0	0.74	125	104	127	118.7	0.68
50	52	76	67	65.0	2.57 *	64	53	49	55.3	1.46	119	129	126	124.7	0.75	163	171	171	168.3	0.96
100	69	65	45	59.7	2.36 *	49	55	88	64.0	1.68	166	132	127	141.7	0.86	141	131	156	142.7	0.81
200	48	53	77	59.3	2.34 *	71	74	95	80.0	2.11 *	136	168	122	142.0	0.86	140	156	127	141.0	0.80
(+)						97	66		81.5	2.14	374	441		407.5	2.46					

ANALISE ESTATISTICA				
P ANAL. VARIANCIA	0.1% ***	4.1% *	9.2% ns	0.1% ***
MODELO ACEITAVEL (p)	LINTOX1 (25%)	LINEAR (59.5%)	LINEAR (5.4%)	-
P DOSE RESPOSTA	0.0% ***	0.2% **	41.3% ns	-
REVERTENTES/ML	1.141	0.201	-	-
LIMITE CONF.	<0.692,1.59>	<0.1,0.302>	-	-
RESULTADO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: ABRIL DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	22	27	30	26.3		20	31	31	27.3		146	156	122	141.3		123	124	101	116.0	
25	11	19	16	15.3	0.58	33	31	26	30.0	1.10	156	158	112	142.0	1.00	99	109	77	95.0	0.82
50	19	23	17	19.7	0.75	30	25	33	29.3	1.07	118	126	130	124.7	0.88	102	95	92	96.3	0.83
100	24	14	20	19.3	0.73	18	20		19.0	0.70	182	129	151	154.0	1.09	131	116	116	121.0	1.04
200	16	19	18	17.7	0.67	29	14	30	24.3	0.89	119	121	118	119.3	0.84	100	110	123	111.0	0.96

ANALISE ESTATISTICA				
P ANAL. VARIANCIA	7.6% ns	22.5% ns	18.1% ns	7.2% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (5%)	LINEAR (23.5%)	LINEAR (19.7%)	LINEAR (5.4%)
P DOSE RESPOSTA	77.8% ns	89.6% ns	91.1% ns	14.3% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

TABELA A13 - Resultados do Teste de Ames para o ponto 13 - JA2800
Continuação

Campanha: JUNHO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	26	26	20	24.0		27	40	34	33.7		138	177	128	147.7		183	115	182	160.0	
25	35	26	28	29.7	1.24	41	37	51	43.0	1.28	205	132	180	172.3	1.17	153	141	150	148.0	0.93
50	37	24	24	28.3	1.18	31	51	44	42.0	1.25	156	144	165	155.0	1.05	165	177	175	172.3	1.08
100	26	31	33	30.0	1.25	37	28	40	35.0	1.04	183	152	172	169.0	1.14	98	106	130	108.0	0.68
200	28	20	32	26.7	1.11	32	45	52	43.0	1.28	149	156	151	152.0	1.03	107	150	131	129.3	0.81
(+)						255	323		289.0	8.58	982	1168		1075	7.28					

ANALISE ESTATISTICA				
P ANAL. VARIANCIA	60.7% ns	43.7% ns	58.5% ns	3.1% *
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (47.2%)	LINEAR (36.9%)	LINEAR (43.9%)	BERNSTEIN (22.3%)
P DOSE RESPOSTA	38.4% ns	22.5% ns	54.7% ns	99.6% ns
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Campanha: AGOSTO DE 1988

DOSE	TA98-S9					TA98+S9					TA100-S9					TA100+S9				
mL	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM	P1	P2	P3	X	RM
0	20	19	25	21.3		28	35	37	33.3		169	138	181	162.7		140	147	146	144.3	
25	21	29	25	25.0	1.17	30	35	24	29.7	0.89						138	138	151	142.3	0.99
50	25	25	33	27.7	1.30	38	33	40	37.0	1.11	142	147	173	154.0	0.95	116	168	162	148.7	1.03
100	43	31	20	31.3	1.47	39	37	28	34.7	1.04	115	128	131	124.7	0.77	179	145	153	159.0	1.10
200	25	21	21	22.3	1.05	36	46		41.0	1.23	128	148	132	136.0	0.84	163	149	192	168.0	1.16
(+)						107			107.0	3.21	1476			1476	9.07					

ANALISE ESTATISTICA				
P ANAL. VARIANCIA	26.9% ns	27.2% ns	4.9% *	44.1% ns
MODELO ACEITAVEL (p)	LINEAR (17.4%)	LINEAR (47%)	LINEAR (8.4%)	LINEAR (96.6%)
P DOSE RESPOSTA	49.3% ns	4.9% *	97.6% ns	3.9% *
REVERTENTES/ML	-	-	-	-
LIMITE CONF.	-	-	-	-
RESULTADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO