

UNA MIRADA RETROSPECTIVA DE TRENTA ANYS DES DEL CONTEXT DEL MÓN MICROBIÀ

RAMÓN PARÉS

Departament de Microbiologia. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona.

Adreça per a la correspondència: Departament de Microbiologia. Facultat de Biologia.
Universitat de Barcelona. 08071 Barcelona.

IMPRESSIONS PERSONALS SOBRE EL DESENVOLUPAMENT DE LA BIOLOGIA

A un microbiòleg amb més de mig segle d'activitat, pot semblar-li que en els darrers trenta anys la biologia s'ha vist especialment afavorida per un progrés extraordinari en els mitjans analítics i, en general, per uns recursos instrumentals cada vegada més complets i millors. Això és el que em sembla a mi i pot ser que sigui cert. D'aquesta manera s'ha pogut i es pot anar arribant a determinar directament multitud d'aspectes subjacents en els grans avenços que, en el terreny de les idees, s'assoliren en un procés accelerat des de començament de segle fins als anys setanta. De fet, la visió intel·lectual que s'arribà a configurar permeté construir nous i importants paradigmes que donaven una impressió fascinant de progrés en el coneixement de la matèria viva i suscitaven una gran quantitat de solucions i problemes. A més a més, a causa de la Guerra Civil i de l'aïllament d'una llarga postguerra,

en el nostre país teníem com a referència una instrucció sovint endarrerida, per la qual cosa, durant les dècades dels cinquanta i dels seixanta, aquesta impressió era sentida aquí encara més fortament.

Malgrat la gran quantitat de conseqüències i aplicacions de les noves teories que a l'època referida s'albiraven, abundaven, però, les conjectures difícils de verificar. Fou aquell subseqüent desenvolupament instrumental i tecnològic en general allò que progressivament permeté obrir les vies cap a les constatacions més i més precises, i cap a aplicacions refinades abans impossibles. És cert que, de tant en tant, unes i altres afloraren la necessitat de més d'un retoc conceptual, però, sorprenentment, no gaire importants en la majoria dels casos, sense haver de trencar la coherència del sistema establert. És per això que alguna veu prestigiosa hauria arribat a dir, crec que seriosament i no com a *boutade*, que d'idees importants en biologia, realment noves, n'hi ha hagut molt poques després dels anys setan-

ta i, malgrat la grandíssima aportació de nous coneixements, de vegades hom pensa que pot ben bé ser així, sobretot si es compara amb els progressos de l'etapa immediata anterior.

Aquest continu desplegament d'instrumental i de noves tècniques a què m'estic referint ha donat feina i continuarà donant-ne de forma aparentment inacabable a un col·lectiu científic atrafegat i en contínua expansió. Fa la impressió, però, que aquest col·lectiu està mogut més per tendències mimètiques dels principals corrents en voga que no pas per allò de *los consejos sugeridos por el estudio y la meditación* (Ramón y Cajal, 1935). Sens dubte, això pot estar abonat per la peremptorietat de la competència curricular i per les fortes pressions comercials. Recordo que un vell professor de química orgànica no es cansava d'exclamar: ¡Aquests afeccionats que es creuen que fan química perquè els han ensenyat a manejar unes quantes màquines completament estranyes al seu món intel·lectual! En tot cas, la dèria de les publicacions i la compra continuada d'aparells fa témer que el progrés que en resulti sigui esbiaixat i més quantitatiu que qualitatiu, sobretot quan es contempli amb una perspectiva de cinquanta o cent anys.

El pensament biològic dels darrers trenta anys representa una mena d'apoteosi de l'escala molecular i dels sistemes globals. Encara recordo com els biòlegs d'abans miraven amb escepticisme i recel evidents els progressos de la bioquímica, considerant que poc es podia esperar d'allò que veien com a pura química dels sucus que es podien separar de la matèria viva. Com a contrapartida, els bioquímics ignoraven el que ara anomenem fenoma o component somàtic de l'organisme, com a sistema capaç d'utilitzar amb èxit les condicions que trobarà al llarg del temps per sobreviure i reproduir-se en el si d'una població natural. De fet seguei-

xen ignorant-ho, com fins i tot també ho fan alguns biòlegs que semblen haver oblidat que el fenoma és l'única cosa que té en compte la selecció natural. Pel que fa a la globalització, el pensament biològic es troba en el mateix context que tots els altres corrents globalitzadors del pensament occidental desenvolupats després de la darrera guerra mundial, i interacciona amb quasi tots.

No totes les molècules han suscitat el mateix entusiasme. Evidentment, en el *boom* molecular les proteïnes i els àcids nucleics se n'han emportat la palma. En canvi, els glucoconjugats no han tingut tanta sort i han estat molt menys treballats, malgrat la gran importància que semblen tenir, tant des del punt de vista estructural com funcional, en els bacteris i àdhuc en els eucariotes. El model de la seva síntesi, inestable i heterogènia, és ben diferent del de les altres macromolècules i es contraposa a la relativa fidelitat dels sistemes d'autoduplicació, transcripció i traducció.

Després dels darrers trenta anys, a causa de nous postulats ideològics i dels prejudicis que s'han anat establint, tot el coneixement biològic té una lectura bastant diferent de la que s'hauria fet abans dels anys setanta. Això, sens dubte, influirà en el desenvolupament futur de la biologia. En tot cas, per aquesta raó no està clar que aquesta sigui l'única ni la millor manera en què es podria fer aquest desenvolupament.

Tot el que he referit és una breu reflexió, si es vol una mica a la valenta, sobre el desenvolupament de la biologia en el període que ha seguit fins avui des del sisè Col·loqui de la Societat Catalana de Biologia intitulat «Cap on va la Biologia Moderna» que es celebrà l'any 1970. Ara voldria afegir-n'hi unes altres partint de la meua pròpia participació en aquell acte (Parés, 1971), atenent a l'experiència personal al llarg del temps que ha passat.

DE L'ASIMETRIA A LA MICROHETEROGENEÏTAT MOLECULAR

En el col·loqui de la SCB del 1970 vaig presentar algunes reflexions sobre l'asimetria molecular de la vida. En aquella època estava clar que la síntesi proteica controlada pels àcids nucleics només podria utilitzar L-aminoàcids i que, per tant, la presència de D-aminoàcids en diferents oligopèptids bacterians plantejava la pregunta de si una addició successiva d'aminoàcids donaria una síntesi homogènia o bé heterogènia, és a dir, si l'ordre dels aminoàcids seria constant o no. Atenent al que es sabia de la composició d'antibiòtics com la gramicidina S, la tirocidina i la bacitracina, que contenen D-aminoàcids, en aquell moment pensava que l'ordre d'aquests es mantindria constant. Això suggeria la possibilitat d'algun mecanisme hereditari encara desconegut, perquè, fora del control rigorós que permet la transcripció i la traducció, es feia difícil entendre una biosíntesi homogènia de pèptids amb D-aminoàcids.

També vaig presentar un altre exemple encara més interessant i del qual es coneixien més dades. Em refereixo a la mureïna de la paret bacteriana. En aquell moment, tots els microbiòlegs estàvem mig bocabats pels treballs de Park i de Strominger, que eren d'aquells que només es poden fer en una mena d'estat de gràcia (Strominger, 1973). Els estafilococs inhibits per la penicil·lina acumulen UDP-GNAc-lactil èter, intermediari de la formació de la mureïna. De fet, el carboxil de l'àcid làctic estava unit a un oligopèptid de longitud variable d'entre un i cinc aminoàcids. Hi havia una síntesi heterogènia coherent amb una addició inicial de L-Ala, seguida per la de D-glutamat. Després s'hi afegiria la L-Lis, si n'hi havia de present. A continuació s'hi uneix un dipèptid de D-Ala, la qual cosa es pot blo-

quejar amb D-cicloserina. La D-Ala es forma amb una racemasa a partir de la L-Ala, reacció que també és inhibida per la D-cicloserina. L'UDP-GNAc-lactil-L-Ala-D-Glu-L-Lis-D-Ala-D-Ala és l'únic que s'incorpora a la paret cel·lular, procés que és inhibit per la bacitracina, la vancomicina i la ristocetina. Per tant, en circumstàncies normals, aquest compost és seleccionat per l'acceptor i les altres variants que es puguin formar quedarien pràcticament excloses o reduïdes a una petita concentració en equilibri que no es revela per efecte dels inhibidors. Aquesta microheterogeneïtat molecular més o menys críptica podria ser l'origen tant de la diversificació de l'oligopèptid de la mureïna entre diferents bacteris com de la síntesi d'antibiòtics peptídics amb D-aminoàcids. La seva mateixa activitat podria deure's a una inhibició *feedback* encoberta.

L'oligopèptid de la mureïna dels estafilococs potser constitueix el primer cas estudiat de biosíntesi d'un polipèptid sense ribosoma ni mRNA. No oblidem que també es sabia que els ponts de pentaglicina sí que es formaven a partir del corresponent glicil RNA-*transfer*.

Els àcids teicoics de la paret cel·lular dels bacteris grampositius, que sovint presenten D-Ala però no oligopèptids, es formen d'acord amb una microheterogeneïtat molecular i, probablement, la forma dominant ve determinada per la seva unió covalent amb la mureïna.

El lipopolisacàrid (LPS) de la paret cel·lular dels bacteris gramnegatius també presenta microheterogeneïtat, diferent per al lípid A, el nucli i la cadena O, la qual és la part més específica probablement per causa de la raresa dels seus sucres constituents. Els altres factors de selecció de les formes dominants podrien ser la mateixa macromolècula de LPS que es forma més ràpidament i la pròpia inserció a la paret cel·lular.

En els darrers deu anys, els àcids lipotei-

obstant això, en aquest cas es produeix un RNA heterogeni, resultat d'una autoreplicació amb molts errors. Quan la síntesi prossegueix molt temps, la composició de les molècules formades es va uniformitzant per efecte de l'RNA acumulat que actua com a motlle, la qual cosa permet un procés de multiplicació molt ràpid i fidel (Eigen *et al.*, 1981). A més a més, es van seleccionant les molècules que es multipliquen més ràpidament. També s'ha assolit la síntesi de l'RNA sense replicasa, utilitzant un RNA preformat com a motlle i subunitats monomèriques. La fidelitat de l'automultiplicació depèn del tipus de RNA, però sempre és molt limitada, cosa que dona una certa varietat de molècules d'àcid nucleic. En aquest darrer cas la capacitat d'acumular i mantenir informació resulta molt petita, en tant que en el sistema RNA replicasa ja es donen menys errors en la multiplicació, si bé el text genètic no pot ultrapassar alguns milers de nucleòtids. Recordi's també que molts virus RNA presenten una variabilitat extraordinàriament alta per causa dels errors que es donen en la multiplicació del seu genoma. Amb el DNA bicatenari les coses són diferents, ja que les seves polimerases poden corregir la còpia i suprimir errors tan eficaçment que permeten textos estables fins de milions de nucleòtids (Steinhauer i Holland, 1987).

Així l'autoduplicació fiable del DNA potser s'hauria derivat d'una autoduplicació heterogènia (Sonea i Panisset, 1983), arribant a ser la base d'un extens sistema de biosíntesis homogènies. El que no és clar és com s'ha arribat a configurar i a mantenir al mateix temps un determinat tipus de biosíntesis heterogènies, característiques i relativament estables per a cada espècie. Probablement, la microheterogeneïtat no ha rebut fins ara tota l'atenció que es mereix.

LA DIVERSITAT DELS PROCARIOTES COM A RESULTAT D'UN GENOMA OBERT

Als anys setanta vèiem els bacteris molt més pròxims als organismes superiors que no pas ara, sobretot pel que fa a l'organització dels respectius genomes. En els primers, tot és més petit i compacte. En els segons, els gens estan distribuïts en diversos trossos separats per regions no codificants, on hi ha una gran quantitat de DNA que no se sap perquè serveix. En els eucariotes es troben també pseudogens o gens cadàvers que es passen entre els veritables gens. Els mateixos sistemes de regulació genètica en uns i altres semblen ben diferents, en els bacteris a l'extrem d'una seqüència de gens, mentre que en els organismes superiors estan distribuïts regularment en molts blocs. Entre els mateixos procarionts, les diferències del genoma poden ser molt més grans del que es pensava, i és probable que incloguin organismes tan o més distanciat evolutivament entre si com ho puguin estar dels eucariotes.

Sembla que els bacteris basen llur capacitat d'evolució en un sistema d'intercanvi de gens totalment obert. De fet, presentaria certa analogia amb l'evolució cultural. En canvi, els eucariotes poden explotar molt poques possibilitats a part de les derivades del seu propi genoma intracel·lular, tant per a la diferenciació com per a l'evolució. No obstant això, tenen una capacitat més gran de fer coses noves a partir de deixalles de coses velles pròpies. Els bacteris se serveixen més aviat i amb gran facilitat del material genètic d'altres bacteris. Això podria originar dos tipus d'evolució diferents, no lineal i molt més ràpida en el cas dels procariotes.

La diversitat bioquímica dels bacteris continua constituint un fenomen cada cop més extens, extraordinàriament excitant, sobretot pel fet que, en contra del vell concepte de Winogradsky, no hi ha cap fisiologia in-

dependent ni aïllada. Els bacteris de l'àcid acètic, per exemple, són un grup molt definit de bacils gramnegatius, estrictament aerobis, però trobem un *Gluconobacter* que pot fermentar glucosa per la via d'Entner-Doudoroff, la qual només s'havia trobat en algun bacteri anaerobi estricte com *Zymomonas mobilis*. D'altra banda, en una subespècie d'*Acetobacter* la glucosa pot convertir-se en acetat per l'anomenada via de les fosfocetolases, que només es coneixia a *Bifidobacterium*, també un bacteri anaerobi que no té res a veure amb els de l'àcid acètic. Tenim així dos bacteris, dues subespècies de dos gèneres estrictament aerobis, que tenen un sistema alternatiu d'abastament energètic que és propi de dos anaerobis estrictes diferents i molt peculiars, que en les altres característiques no tenen res que els pugui relacionar amb els bacteris de l'àcid acètic. Són una mena de quimeres bioquímiques (Parés i Juárez, 1997).

La utilització del piruvat per formar productes més reduïts es troba amplament distribuïda en els microorganismes. La descarboxilació directa a acetaldehid només té lloc als llevats i als bacteris de l'àcid acètic. En bacteris facultatius, com *E. coli* i *B. macerans*, en absència d'oxigen, la funció de la complexa descarboxilació oxidativa queda substituïda per la de la *piruvatformiatliasa*. En canvi, en els gèneres *Clostridium* i *Desulfovibrio*, rigorosament anaerobis, la descarboxilació del piruvat es realitza per efecte del complex piruvat-ferredoxina oxidoreductasa. No obstant això, a *Clostridium acidurici* s'utilitza el sistema anteriorment referit que dona lloc a formiat. O sigui que, enfront d'una evident uniformitat del mecanisme bioquímic en cada grup taxonòmic, molt sovint trobem l'excepció que utilitza el sistema bioquímic propi d'un altre grup. Es podria escriure un llibre sencer amb els exemples coneguts i cada dia se'n descobren de nous (Parés i Juárez, 1997).

Des dels anys setanta han anat apareixent nous grups fisiològics i se n'han anat diversificant molts dels antics. És el cas dels acetògens, els metanògens, el món dels desnitrificants aerobis, les noves sulfurògenes, els degradadors anaerobis de compostos aromàtics, els metilotròfics i els que es desenvolupen sota condicions extremes (Parés i Juárez, 1997).

És probable que dins dels procariotes hi hagi diferents tipus d'organització i que uns puguin considerar-se més primitius que altres. No obstant això, l'evolució lineal i irreversible o els arbres filogenètics no hi resulten aplicables. Conseqüentment, la taxonomia dels procariotes no pot tenir una interpretació historiconatural comparable a la dels eucariotes.

L'HETEROGENEÏTAT DE LA DESCENDÈNCIA CLONAL DELS PROCARIOTES

Pel que fa al treball experimental, en els anys que seguiren el sisè Col·loqui de la SCB vaig dedicar-me a tres temes diferents en aspectes concrets i específics, però que incideixen en el problema de la fluctuació de l'expressió gènica en la descendència clonal dels procariotes (Parés, 1988). Un d'ells era l'heterogeneïtat colonial de la soca C3 de *Klebsiella pneumoniae* (Parés et al., 1974). Sota unes condicions determinades de creixement sobre un medi mineral amb glucosa, es presenten colònies que acumulen glutamat al voltant i altres que no. Partint de la hipòtesi que això era degut al fet que hi ha cèl·lules excretores i no excretores de glutamat, s'arribà a un model que permetia establir que la descendència d'una cèl·lula no excretora dona cèl·lules excretores de glutamat amb una probabilitat per cèl·lula i generació pròxima al 4 %. El procés seria reversible a una velocitat del mateix ordre, per la

qual cosa s'arriba a una heterogeneïtat estable de la població que encaixa amb el fenomen descrit formalment com equilibri mutacional. Naturalment, ni aquí ni en altres casos no es pot tractar de cap mutació, donada l'alta velocitat del canvi. En poblacions molt petites hi ha una fluctuació de cèl·lules excretores i no excretores de glutamat. En una població gran hi ha una heterogeneïtat estable dels dos fenotips. L'aplicació de l'anomenada selecció periòdica de veritables mutants excretores o no excretores es faria impossible, perquè sempre hi ha molts més individus d'un i altre fenotip entre els quals hi haurà la forma més adaptada al medi. Les dues formes, excretora i no excretora, són fàcilment detectades perquè el medi no té caràcter selectiu sobre cap d'elles.

El segon dels temes feia referència a la pèrdua reversible de la capacitat de creixement autotròfic de la soca 2k1 de *Pseudomonas taeniospiralis* (Lalucat *et al.*, 1982). Aquest bacteri creix autotròficament en medi mineral i atmosfera de gas detonant (A), heterotròficament amb sacarosa (H), i mixotròficament quan en condicions autotròfiques es troba glucosa present en el medi. L'anàlisi de poblacions grans va mostrar que hi havia una heterogeneïtat d'individus corresponents a tots els fenotips: $A^+H^+M^+$, $A^-H^+M^+$, $A^+H^-M^+$, $A^+H^+M^-$, $A^-H^-M^+$, $A^-H^+M^-$ i $A^+H^-M^-$. En poblacions petites es posava de manifest la fluctuació de l'expressió gènica com en el cas anterior i, per tant, també havíem de suposar un canvi reversible d'alta probabilitat. Igualment en aquest cas, la selecció de veritables mutants A^- , H^- o M^- resultaria impossible, perquè sempre seran menys nombrosos que les formes A^+ , H^+ o M^+ que s'expressen com A^- , H^- i M^- .

Finalment, el tercer problema era l'expressió del cos R en les partícules *kappa* i en un bacteri lliure (Lalucat *et al.*, 1979). Les partícules *kappa* es diferencien d'altres endosimbionts de *Paramecium aurelia* perquè són

els únics que poden presentar en el citoplasma cossos refràctils denominats cossos R (*R-bodies*). Hi ha partícules *kappa* amb cossos R i sense cossos R en la mateixa població d'endosimbionts. Tots els que no tenen cossos R poden formar-los, però el fenotip R no sempre s'expressa, fet que dona una població heterogènia. La diferència amb els casos anteriorment referits és que els *kappa* amb R no es poden multiplicar i la infecció del *Paramecium* es manté exclusivament a través de les formes sense cos refràctil. No obstant això, es pot regular la velocitat de multiplicació de l'hoste per reduir molt el nombre d'endosimbionts per cèl·lula. Si llavors tornem a passar a les condicions de creixement lent, es pot observar el caràcter fluctuant de l'expressió de R fins arribar a la població típica amb heterogeneïtat estable. Amb un bacteri de vida lliure que també forma cossos R s'ha pogut arribar a unes conclusions semblants.

Si es reflexiona sobre els exemples anteriors hom pot concloure que l'expressió fenotípica fluctuant és probablement un fenomen molt general en els bacteris. Si això fos així, podria contribuir a la uniformitat genotípica dels cultius purs en unes determinades condicions, però la descendència clonal estaria constituïda per cèl·lules amb un nombre indefinit de fenotips possibles. Aquests es posarien de manifest sempre que el medi de cultiu no tingués caràcter selectiu, i donarien una mena de diferenciació fenotípica caòtica enfront del que passa en la descendència clonal de l'ou d'un eucariot.

És evident que en els eucariotes l'expressió dels gens ha de ser regulada en l'espai i en el temps amb gran precisió. L'expressió gènica fluctuant pot donar lloc a una diferenciació fenotípica, però seria incompatible amb un desenvolupament ordenat com el d'un ou fecundat.

Després del que acabo de referir, cal afegir que s'ha d'avançar més sobre els fenòmens de la fluctuació de l'expressió gènica

en els procariotes per arribar a abastar tota la seva possible significació. No hi ha dubte que posen de manifest que en la descendència de la cèl·lula procariota hi ha una capacitat potencial de diferenciació fenotípica generalment reversible, amb independència de l'intercanvi de gens i dels fenòmens adaptatius coneguts. Una població desenvolupada en condicions naturals canviants podria així determinar un gran nombre de fenotips diferents, generat a l'atzar i totalment desordenat.

En la meua participació al sisè Col·loqui de la SCB vaig parlar també dels tipus de vida possibles i de l'origen de la clau genètica. Evidentment dos temes que continuen sent molt especulatius, independentment que allò que vaig dir pugui haver perdut certa vigència. Com en el que acabem de tractar, en tot cas hi trobem l'intent de formalitzar el coneixement que pot derivar-se de la percepció de nous i diferents fets, o bé la necessitat d'una conjectura de la qual puguin emergir noves idees. Aquest procés intel·lectual és realment bàsic per al progrés del coneixement científic, encara que no sempre sigui afortunat. Jo crec que això seguirà i, per tant, em considero optimista respecte al futur desenvolupament de la biologia, al marge d'una acumulació progressiva de nous coneixements, més o menys rellevants, dins el marc dels paradigmes establerts. A part de la millor comprensió del propi paradigma i del seu abast, ben segur que aquesta acumulació anirà donant profitoses aplicacions.

BIBLIOGRAFIA

- EIGEN, M.; W. GARDINER; P. SCHUSTER; R. WINKLER-OSWATITSCH (1981). «Origen de la informació genética». *Investigación y Ciencia*, núm. 57, pàg. 62-81.
- FISCHER, W. (1987). «Lipoteichoic acid of *Bifidobacterium bifidum* subsp. *pennsylvanicum* DSM 20239: A lipoglycan with monoglycerophosphate side chains». *Eur. J. Biochem.*, núm. 165, pàg. 639-646.
- (1993). «Molecular analysis of lipid macroamphiphiles by hydrophobic interaction chromatography». *Anal. Biochem.*, núm. 208, pàg. 49-56.
- (1994). «Lipoteichoic acids and lipoglycans». *Bacterial Cell Wall A*: GHUYSEN I.-M.; R. HAKENBECK, (ed.). Elsevier Science B. V., pàg. 199-215.
- LALUCAT, J.; O. MEYER; F. MEYER; R. PARÉS; H. G. SCHLEGEL (1979). «R-bodies in Newly Isolated Free Living Hydrogen Oxidizing Bacteria». *Arch. Microbiol.*, núm. 121, pàg. 9-15.
- LALUCAT, J.; R. PARÉS; H. G. SCHLEGEL (1982). «*Pseudomonas taeniospirallis* sp. nov. and R-body-containing hydrogen bacterium». *International Journal of Systematic Bacteriology*, núm. 32, pàg. 332-338.
- PARÉS, R. (1971). «Asimetria molecular de la vida i possibilitat de l'enantivida». A: *Cap on va la Biologia moderna*. Barcelona: Societat Catalana de Biologia. (Col·loquis; VI), pàg. 13-39.
- PARÉS, R.; J. GUINEA; S. HERNÁNDEZ; J. VALOIX; J. JOFRE (1974). «A new episomic element controlling fermentative metabolism and excretion of aminoacids by *Citrobacter intermedium* C3». *Jour. of Bacteriol.*, núm. 129, pàg. 9-18.
- PARÉS, R. (1988). «Fluctuació de l'expressió gènica en la descendència clonal de procariotes en condicions no selectives». *Memorias de la Real Academia de Ciencias y Artes de Barcelona*, vol. XLVIII, núm. 6, pàg. 263-294.
- PARÉS, R.; A. JUÁREZ (1997). *Bioquímica de los microorganismos*. Barcelona: Reverté.
- RAMÓN Y CAJAL, S. (1935). *Reglas y consejos para la investigación científica*. 7a edició. Madrid: Librería F. Betrán.
- SONEA, S.; M. PANISSET (1983). *A New Bacteriology*. Boston: Jones and Bartlett Publishers.
- STEINHAEUER, D. A.; J. J. HOLLAND (1987). «Rapid evolution of RNA viruses». *Ann. Rev. Microbiol.*, núm. 41, pàg. 409-433.
- STROMINGER, J. L. (1973). «Actions of penicillin and other antibiotics on bacterial cell wall synthesis». *John Hopkins Met. J.*, núm. 133, pàg. 63-81.