

VARIACIÓN DE FASE EN *MYXOCOCCUS XANTHUS*: EFECTO DE AGENTES MUTAGÉNICOS

Montserrat Elías Arnanz*

Recibido: noviembre 1984

SUMMARY

Phase variation in *Myxococcus xanthus*: effect of mutagens

This paper includes quantitative data on a phase variation phenomenon in the bacterium *Myxococcus xanthus* which affects colonial pigmentation. The spontaneous or mutagen induced frequencies of phase variation, both in wild type and colour mutant strains, can be explained by assuming that phase variation in *M. xanthus* is genetically controlled and is also sensitive to physiological circumstances.

The mutagen nitrosoguanidine induces a transitory instability of the cellular phase, whereas UV light has not any effect on phase variation.

RESUMEN

Este trabajo aborda un análisis cuantitativo de un fenómeno de variación de fase, que afecta a la pigmentación de las colonias en la bacteria *Myxococcus xanthus*. El estudio de la frecuencia de variación de fase en estirpes silvestres y mutantes en la pigmentación colonial, tanto espontánea como inducida por agentes mutagénicos, revela que dicho fenómeno está controlado genéticamente y es sensible a cambios fisiológicos.

El agente mutagénico nitrosoguanidina provoca una inestabilidad transitoria de la fase celular, mientras que la luz ultravioleta no tiene efecto sobre la variación de fase en *M. xanthus*.

INTRODUCCIÓN

Myxococcus xanthus pertenece al grupo de las mixobacterias, descubiertas por Roland Thaxter en 1982. Son bacterias aerobias, Gram-negativas, heterótrofas y de morfología bacilar alargada que crecen en el suelo sobre vegetales en descomposición. Varios aspectos las distinguen de otras bacterias Gram-negativas. Carecen de flagelos y, sin embargo, son capaces de moverse sobre superficies sólidas, por deslizamiento, dando lugar a colonias planas y pigmentadas, que se extienden sobre el agar. Resalta en ellas su aptitud para degradar a otras células microbianas y, sobre todo, su capacidad para iniciar, en determinadas circunstancias, un ciclo multicelular de desarrollo. Esta característica ha convertido a *M. xanthus* en objeto de

estudio de varios grupos de investigación, interesados en la regulación del desarrollo en organismos pluricelulares, y que abordan el problema utilizando organismos unicelulares procariontes con un ciclo de desarrollo sencillo. Algunas revisiones de interés sobre este organismo son las de KAISER *et al.* (1979) y la de ZUSMAN (1979).

La mayoría de las mixobacterias dan lugar a colonias con una coloración roja, amarilla o naranja característica. Esta coloración se debe fundamentalmente a la presencia de carotenoides (JAHN, 1924). Los carotenoides son componentes comunes de las membranas de muchas bacterias donde se cree que actúan como pigmentos fotoprotectores. Idéntica función se ha atribuido a los carotenoides presentes en *M. xanthus* (BURCHARD & DWORKIN, 1966). En

* Departamento de Genética. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. Murcia.

esta misma especie se ha descrito la inducción por la luz de la síntesis de carotenoides (BURCHARD & HENDRICKS, 1969).

Los estudios en otras mixobacterias han permitido identificar hasta cincuenta carotenoides distintos, localizados a nivel de membrana, la mayoría de los cuales están presentes en cantidades minoritarias (KLEINIG & REICHENBACH, 1969; KLEINIG, 1972). En *M. xanthus* se ha descrito la existencia de pigmentos no carotenoides, incluyendo un pigmento amarillo hidrosoluble cuyo color es dominante en las células crecidas en la oscuridad (M. Dworkin, observaciones no publicadas).

M. xanthus presenta un fenómeno de variación de fase en relación con la coloración de las colonias. BURCHARD & DWORKIN (1966) describieron una variación en la pigmentación de las colonias formadas a partir de cultivos de *M. xanthus* FB. Alrededor del 10% de las colonias eran amarillas (Y de *yellow*) y el 90% eran morenas (T de *tan*). La variedad Y era estable, ya que al extender en una caja de cultivo una colonia de este color, las colonias obtenidas fueron todas amarillas. Sin embargo, el aislamiento de colonias a partir de la variante T dio lugar a colonias Y.

La existencia de dos estados alternativos respecto a la coloración y la elevada frecuencia de conversión sugiere que el proceso es una variación de fase, posiblemente análoga a la variación de fase flagelar de *Salmonella typhimurium* (ZIEG *et al.*, 1978; SILVERMAN *et al.*, 1979).

La base molecular responsable del fenómeno de variación de fase en *M. xanthus* se desconoce por el momento, aunque se ha sugerido que podría tener lugar por reorganización del genoma (T. Yee, observaciones no publicadas).

En este trabajo se ha abordado el estudio de la variación de fase en *M. xanthus* de un modo cuantitativo, analizando la frecuencia de variación que muestran diferentes estirpes, tanto de forma espontánea como inducida por tratamientos con agentes mutagénicos. Los agentes mutagénicos utilizados han sido la luz UV y la **N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina**, analizándose su efecto sobre estirpes silvestres y mutantes respecto a la pigmentación de las colonias y su variación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las estirpes bacterianas utilizadas derivan de *M. xanthus* DK101, cepa silvestre que presenta variación espontánea amarillo-moreno en la pigmentación de las colonias (DWORKIN, 1962). En la tabla 1 se indica el fenotipo (relevante para nuestro estudio) y el origen de las estirpes utilizadas.

Los cultivos en medio líquido se realizaron mediante inoculación de la estirpe en matraz erlenmeyer de 50 ml, conteniendo entre 5 y 10 ml de medio CTT (bacto-casitona 1%; tampón Tris-CIH (pH 7.6) 10 mM; $\text{SO}_4\text{Mg} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 8 mM; tampón fosfato (pH 7.6) 1 mM) e incubación a $33^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ y agitación de 300 rpm en un agitador orbital Lab-Line.

Los cultivos en medio sólido CTT (CTT conteniendo 1.5% de agar) se realizaron mediante inoculación con 3 ml de agar blando CTTSA (CTT conteniendo 0.75% de agar) e incubación de las cajas de Petri en estufa mantenida a $33^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

El estudio de la influencia de la luz UV en la frecuencia de variación de fase se realizó de la siguiente forma: 3 ml de un cultivo en fase exponencial de la estirpe a estudiar, crecido en medio CTT, se colocaron bajo una lámpara de luz UV (*germicidal lamp*, Sylvania G15T8, a una distancia de 25 cm), y se tomaron alícuotas a distintos tiempos que, previa dilución, se sembraron en cajas de CTT con CTTSA.

En los experimentos en que el tratamiento con luz UV superó los tres minutos, las muestras se centrifugaron a $2.000 \times g$ durante 20 minutos y se resuspendieron en CTT fresco antes de la siembra, con el fin de eliminar las enzimas autolíticas liberadas por las células tratadas con dosis altas de luz UV.

Una vez aparecidas las colonias, después de 5-6 días de incubación, se determinó la supervivencia a los distintos tiempos de tratamiento y la frecuencia de colonias con un tipo de coloración distinto al de los controles sin tratar.

En algunos experimentos, se modificó el método anterior, realizándose el tratamiento a un solo tiempo e incubando las células tratadas durante 6-7 horas en medio líquido CTT antes de la siembra.

El tratamiento con N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (en adelante abreviado como nitrosoguanidina o NTG) se llevó a cabo de la siguiente forma: un cultivo en fase exponencial de la estirpe a estudiar, crecida en CTT, se trató con $100 \mu\text{g/ml}$ de NTG durante 20-30 minutos a 33°C , con agitación. El tratamiento se detuvo mediante dilución de las muestras en CTT líquido y posterior centrifugación y lavado. Las células lavadas se resuspendieron en un volumen igual de CTT líquido. En algunos experimentos, el cultivo tratado se dejó crecer durante 5 ó 24 horas en CTT fresco y, posteriormente, se sembró en cajas de CTT.

Después de 5-6 días de incubación para permitir la aparición de las colonias, se determinó la supervivencia al tratamiento y la frecuencia de variación de fase en los controles y en las muestras tratadas, con y sin recrecimiento previo.

RESULTADOS

OBSERVACIONES GENERALES SOBRE LA VARIACIÓN DE FASE EN LAS ESTIRPES USADAS EN ESTE TRABAJO

La variación de fase de *M. xanthus* FB, descrita inicialmente por BURCHARD & DWORKIN (1966) en la estirpe silvestre FB, DK101 deriva de una colonia aislada de dicha estirpe y

TABLA 1. Estirpes de *Myxococcus xanthus* utilizadas en este trabajo

Myxococcus xanthus strains used in this work

ESTIRPE	FENOTIPO*	ORIGEN	REFERENCIA
DK1050	amarillo. muy estable	colonia individual, espontánea, de DK101	Hodgkin & Kaiser, 1979.
DK406	rojo. moderadamente estable	mutagénesis con NTG de DK1050	Aislada por F. J. Murillo.
MR7	naranja. muy estable	mutagénesis con UV de DK1050	Aislada por A. M. Laborda.
MR132	amarillo, muy estable	colonia individual, espontánea de DK406	Este trabajo.

* «Muy estable»: indica la aparición espontánea de colonias de otro color (moreno para DK1050 y amarillo para MR7) con una frecuencia menor de 10^{-3} .

«Moderadamente estable»: indica la aparición espontánea de colonias de otro color (amarillo para DK406) con una frecuencia de hasta el 5%.

presenta el mismo fenómeno. es decir, la aparición de colonias morenas y amarillas, ambas a alta frecuencia, a partir de colonias aisladas.

La estirpe DK1050 es una estirpe estable amarilla aparecida espontáneamente a partir de DK101. Menos de una de cada mil colonias presentan color moreno.

La estirpe DK406 fue obtenida de DK1050, tras tratamiento con NTG, y forma colonias rojas en su mayoría, dando lugar con baja frecuencia a colonias de color amarillo (menos del 5%). Esta variación sugiere una correspondencia entre la forma morena de las estirpes silvestres FB y DK101 y la forma roja de DK406.

MR7, que deriva de DK1050, tras mutagénesis con luz UV, presenta un fenotipo particular. Las colonias son de color amarillo durante uno o dos días después de su aparición en cajas pero se vuelven luego de color rojo anaranjado. La aparición de este último color puede acelerarse si las colonias jóvenes, normalmente embebidas en el agar blando, se transplantan a la superficie de una nueva caja. Ello parece sugerir una influencia del grado de oxigenación en la aparición de la coloración anaranjada. Por otra parte, la estirpe MR7 presenta una gran estabilidad. no habiéndose encontrado colonias de comportamiento distinto al descrito.

La coloración amarilla de DK1050 se torna roja si la estirpe es cultivada en presencia de una fuerte iluminación continua. Este fenómeno puede observarse en la figura 1, donde se presentan los espectros de absorción de extractos crudos de DK1050 cultivado en presencia de luz y en completa oscuridad. Hay que señalar que los espectros de extractos crudos de la estirpe DK406 y la estirpe MR7 en sus estado anaranjado son muy similares al de la estirpe DK1050 cultivada en presencia de luz.

Los pigmentos responsables de la absorción entre 400nm y 500nm (con máximos alrededor de 462nm y 495nm) son carotenoides, ya que su

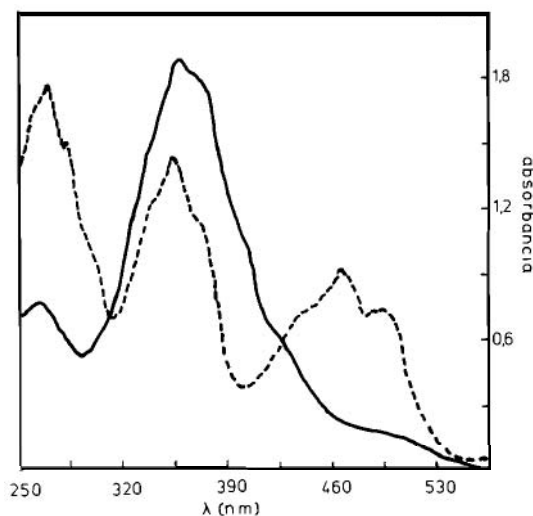


FIGURA 1. Espectros de absorción de extractos crudos, en acetona, de DK1050 crecida en presencia de luz visible (línea discontinua) o en completa oscuridad (línea continua).

Absorption spectra of crude extracts (acetone) of DK1050, grown in the presence of visible light (dashed line) or in complete darkness (continuous line).

acumulación disminuye en presencia de inhibidores de la carotenogénesis (resultados no mostrados).

EFEECTO DE LA LUZ UV EN LA VARIACION DE FASE

Se ha abordado el estudio del efecto de los daños producidos en el ADN por la luz UV sobre la variación de fase.

La variación de fase amarillo-moreno se es-

tudió en la estirpe muy estable DK1050 y la variación rojo-amarillo en la estirpe roja, moderadamente estable, DK406. Asimismo, se estudió la variación naranja-amarillo en la estirpe naranja muy estable MR7 y la variación amarillo-rojo en la estirpe MR132, derivado espontáneo amarillo muy estable de la estirpe DK406.

Las tablas 2 y 3 muestran el efecto de la luz UV en la frecuencia de variación de fase de cada una de las estirpes mencionadas. Se llevaron a cabo dos tipos de experimentos. En unos casos (tabla 2) se sometieron cultivos en fase exponencial de DK1050 y DK406 a distintos tiempos de irradiación, tal como se describe en Materiales y Métodos, y se observó la coloración de las colonias supervivientes en cada tiempo. En otros experimentos (tabla 3), y por si fuera necesario un tiempo para permitir la expresión de una coloración distinta, los cultivos de DK406, MR7 y MR132 se sometieron a una dosis única de luz UV y, posteriormente,

se dejaron recrecer durante 7 horas antes de sembrarlos en las cajas de CTT.

En las tablas 2 y 3, la frecuencia de variación indica el porcentaje de colonias que muestran un color distinto al normal de cada estirpe. Sólo en el caso de DK406, moderadamente estable, se observó un incremento muy ligero en la frecuencia de variación de fase tras el tratamiento con luz ultravioleta y posterior recrecimiento de los cultivos (tabla 3). En ninguno de los otros casos, la luz UV afectó la estabilidad en sus respectivas fases de las estirpes estudiadas.

EFECTO DE LA NITROSOGUANIDINA SOBRE LA VARIACIÓN DE FASE

El efecto de la nitrosoguanidina en la variación de fase se estudió en las estirpes DK406 y MR132. Para ello, se trataron cultivos en fase exponencial de ambas estirpes con nitrosogua-

TABLA 2. Efecto de distintas dosis de luz UV en la variación de fase de DK1050 y DK406

Effect of different doses of UV light on phase variation by strains DK1050 and DK406

TIEMPO DE TRATAMIENTO (sg)	DK1050		DK406	
	SUPERV. (%)	FR. VARIACIÓN (%)	SUPERV. (%)	FR. VARIACIÓN (%)
0	100	<0'2	100	3'1
45	19'8	<0'2	—	—
60	—	—	1'2	1'6
90	3	<0'2	—	—
135	0'7	<0'2	—	—
180	0'019	<0'2	0'0073	<1'3
225	0'0012	<0'2	—	—
240	—	—	0'00016	<1'3
300	—	—	0'000021	<0'95

Los cultivos se iniciaron a partir de una sola colonia. Los datos indican la supervivencia al tratamiento (%) y el porcentaje de colonias que presentaron un color distinto al normal tras el tratamiento correspondiente.

TABLA 3. Efecto del tratamiento con luz UV y posterior recrecimiento en la variación de fase de DK406, MR7 y MR132

Effect of UV light treatment, followed by a growth period, on phase variation by strains DK406, MR7 and MR132

TIEMPO DE TRATAMIENTO (sg)	DK406		MR7		MR132	
	SUPERV. (%)	FR. VAR. (%)	SUPERV. (%)	FR. VAR. (%)	SUPERV. (%)	FR. VAR. (%)
0	100	0'22	100	<0'3	100	<0'3
60	—	—	—	—	0'053	10'3
90	—	—	0'01	10'02	—	—
180	0'0068	<0'66	—	—	—	—
Recrecimiento	—	0'87	—	10'2	—	10'2

En todos los casos los cultivos se iniciaron a partir de una sola colonia. Datos como en la tabla 2.

nidina y se determinó la coloración de las colonias obtenidas inmediatamente después del tratamiento y después de permitir el recrecimiento de los cultivos tratados durante 5 ó 24 horas. La tabla 4 muestra los resultados obtenidos con la estirpe **DK406** en dos experimentos independientes. En ambos casos, el tratamiento con el mutágeno provoca un incremento en la frecuencia de variación de esta estirpe, siendo mayor esta frecuencia al aumentar el tiempo de tratamiento y, por tanto, la magnitud de los daños producidos en el ADN por dicho compuesto.

Se estudió la estabilidad de las colonias rojas y amarillas obtenidas después del tratamiento con nitrosoguanidina. Para ello se realizaron cultivos en CTT a partir de 5 colonias rojas y 5 colonias amarillas seleccionadas al azar entre las obtenidas tras el tratamiento y posterior recrecimiento durante 24 horas. Una vez alcanzada la fase estacionaria, se sembraron alícuotas de los cultivos en cajas de CTT y se determinó el porcentaje de colonias de color distinto al de aquéllas con que se realizó el inóculo. Los resultados de la tabla 5 muestran que los cultivos obtenidos a partir de colonias rojas presentan frecuencias de variación rojo-amarillo similares a la de la estirpe parental **DK406**, con valores comprendidos entre 0'22% y 2'2%. Los cultivos obtenidos a partir de colonias amarillas fueron considerablemente más estables, no encontrándose ninguna colonia roja entre las observadas de cada cultivo (un total de más de 250 colonias, en todos los casos).

La mayor estabilidad de la fase amarilla fue confirmada en la estirpe **MR132**. El tratamiento con nitrosoguanidina de esta estirpe, en las condiciones descritas en Materiales y Métodos, no provoca la aparición de ninguna colonia de coloración distinta (en un total de 1.500 colonias observadas), no viéndose afectada, por tanto, la estabilidad de la fase amarilla de la

estirpe **MR132** por el tratamiento con el mutágeno.

DISCUSIÓN

El comportamiento respecto de la variación de fase que muestran las estirpes utilizadas en este trabajo permite establecer una relación entre el fenotipo rojo y la fase morena. Efectivamente, la variación amarillo-moreno en la estirpe original **DK101** se convierte en una variación amarillo-rojo en la estirpe mutante **DK406**. En esta estirpe se observan dos cambios fenotípicos respecto de su estirpe parental **DK1050**: un cambio de coloración y un cambio en la frecuencia de variación de fase. Podría pensarse, pues, en una mutación pleiotrópica. No obstante, el tratamiento con nitrosoguanidina induce la aparición de variaciones de fase (tabla 4). Dado que **DK406** se obtuvo tras tratamiento con NTG, es posible que los dos cambios fenotípicos indicados se deban a causas independientes.

Los resultados de las tablas 2 y 3 indican que los tratamientos con luz UV no afectan de forma general el fenotipo de variación de fase, al menos en lo que se refiere a la conversión frecuente de estirpes estables en variables. Ello no descarta, desde luego, que puedan producirse cambios mutacionales inducidos por luz UV que supongan cambios genéticos de este fenómeno. Así, la estirpe **MR7** fue obtenida tras mutagénesis con UV de **DK1050**. La frecuencia de estos cambios debe ser, sin embargo, lo suficientemente baja como para no ser detectada en el tipo de experimentos incluidos en las tablas 2 y 3.

Al contrario que la luz UV, los tratamientos con nitrosoguanidina afectan a la frecuencia de variación de fase (tabla 4). Cuando un cultivo

TABLA 4. Variación de fase en la estirpe **DK406** tras el tratamiento con nitrosoguanidina

Phase variation in **DK406** after nitrosoguanidine treatment

TIEMPO DE TRATAMIENTO (min)	EXPERIMENTO 1		EXPERIMENTO 2	
	SUPERV. (%)	FR. VAR. (%)	SUPERV. (%)	FR. VAR. (%)
0	100	<0'45	100	<0'2
20	64	0'76	—	—
30	—	—	10	0'22
Recrecimiento (5 horas)	—	1'30	—	2'66
(24 horas)	—	5'0	—	19'6

Datos como en la tabla 2.

de DK406 es recrecido después de ser tratado con NTG, el porcentaje de colonias amarillas se eleva en magnitud igual o mayor de 100 veces. Un porcentaje alto de células (hasta el 19%, en algún caso) responden al tratamiento cambiando su fase normal «roja» por la de «amarilla».

La frecuencia de cambio de fase inducida por la nitrosoguanidina descarta un hecho mutacional específico como posible explicación. Parece, más bien, que la presencia de la nitrosoguanidina provoca un estado fisiológico de «inestabilidad» en cuanto a la fase de la célula. Las colonias rojas y amarillas resultantes del tratamiento vuelven a comportarse como las colonias no tratadas (tabla 5), lo que significa que el estado de inestabilidad es transitorio.

pacidad de reparación de alteraciones del ADN, la inhibición de la división celular y la inducción del profago lambda en bacterias lisogénicas, mediada por recombinación (GOTTESMAN, 1981; LITTLE & MOUNT, 1982). Transformaciones fisiológicas inducidas por NTG en *M. xanthus* (aspecto éste no estudiado en nuestro organismo) podnan interferir con la estabilidad de la fase celular, provocando los efectos incluidos en la tabla 4. En cualquier caso, parece claro que el fenómeno de variación de fase es sensible no sólo a cambios genéticos puntuales en loci concretos, sino que se ve afectado por modificaciones fisiológicas de carácter más general, que podrían estar relacionadas con la aparición de daños masivos en el ADN.

TABLA 5. Estabilidad de las colonias obtenidas tras el tratamiento con NG de DK406. Los datos muestran el porcentaje de colonias que presentan un color distinto al de aquél con que se inició el cultivo

Phase stability of colonies obtained after nitrosoguanidine treatment of strain DK406. Data show the percentage of colonies with a different colour from that one of the starting culture

COLONIA* ORIGINAL	TOTAL COLONIAS OBSERVADAS	COLOR		FR. VARIACIÓN (%)
		ROJO	AMARILLO	
Rojo,	286	281	5	1'7
Rojo,	404	395	9	2'2
Rojo,	237	236	1	0'4
Rojo,	330	326	4	1'2
Rojo,	447	447	0	<0'2
Amarillo,	620	0	620	<0'2
Amarillo,	312	0	312	<0'2
Amarillo,	220	0	220	<0'4
Amarillo,	462	0	462	<0'2
Amarillo,	266	0	266	0'4

* Se refiere al color de la colonia con que se inició el cultivo.

Efectos fisiológicos de la NTG se han descrito en otros sistemas. En *Escherichia coli*, por ejemplo, existe un mecanismo de adaptación a la nitrosoguanidina por el que las células se hacen más resistentes a los propios efectos de este agente mutagénico (SAMSON & CAIRNS, 1977). Por otra parte, también en *E. coli*, muchos tratamientos que provocan alquilaciones en el ADN o interfieren con su replicación, inducen una respuesta fisiológica compleja y transitoria, llamada respuesta SOS. La nitrosoguanidina interfiere muy efectivamente con la replicación y provoca metilaciones a todo lo largo del ADN bacteriano (CERDAS-OLMEDO *et al.*, 1968; SCUDIERO & STRAUSS, 1976).

La respuesta SOS incluye varias respuestas fisiológicas tales como el incremento en la ca-

La estirpe MR132, amarilla estable derivada espontáneamente de DK406, no vana de fase tras tratamiento con nitrosoguanidina. La fase amarilla puede representar un estado difícilmente revertible en esta estirpe, que podría haber perdido o sufrido mutación en algún elemento genético imprescindible para la variación de fase.

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento a los profesores F. J. Murillo y R. Ruiz-Vázquez por sus continuas aportaciones y discusiones sobre el tema objeto de este trabajo. Igualmente agradezco a M. I. Carretero su colaboración técnica. Este trabajo ha sido realizado gracias a una ayuda de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica concedida al Departamento de

BIBLIOGRAFÍA

- BURCHARD, R. P. & DWORKIN, M. 1966. Light-induced lysis and carotenogenesis in *Myxococcus xanthus*. *J. Bacteriol.*, 91: 535-545.
- BURCHARD, R. P. & HENDRICKS, S. B. 1969. Action Spectrum for carotenogenesis in *Myxococcus xanthus*. *J. Bacteriol.*, 97: 1.165-1.168.
- CERDÁ-OLMEDO, E., HANAWALT, P. C. & GUEROLA, N. 1968. Mutagenesis of the replication point by nitrosoguanidine: map and pattern of replication of the *Escherichia coli* chromosome. *J. Mol. Biol.*, 33: 705-719.
- DWORKIN, M. 1962. Nutritional requirements for vegetative growth of *Myxococcus xanthus*. *J. Bacteriol.*, 84: 250-257.
- GOTTESMAN, S. 1981. Genetic control of the SOS system in *E. coli*. *Cell*, 23: 1-2.
- HODGKIN, J. & KAISER, D. 1979. Genetics of gliding motility in *Myxococcus xanthus* (Myxobacteriales): two gene systems control movement. *Mol. Gen. Genet.*, 171: 177-191.
- JAHN, E. 1924. *Beiträge zur Botanischer Protistology. I. Die Polyangiden*. Gebr. Borntraeger. Leipzig.
- KAISER, D., MANOIL, C. & DWORKIN, M. 1979. Myxobacteria: Cell Interactions, Genetics, and Development. *Ann. Rev. Microbiol.*, 33: 595-639.
- KLEINIG, H. 1972. Membranes from *Myxococcus fulvus* (Myxobactenales) containing carotenoid glucosides. *Biochim. Biophys. Acta*, 274: 489-498.
- KLEINIG, H. & REICHENBACH, H. 1969. Carotenoid pigments of *Stigmatella aurantiaca* (Myxobacteriales) 1. The minor components. *Arch. Mikrobiol.*, 68: 210-217.
- LITTLE, J. W. & MOUNT, D. W. 1982. The SOS regulatory system of *Escherichia coli*. *Cell*, 29: 11-22.
- SAMSON, L. & CAIRNS, J. 1977. A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli*. *Nature* (London), 267: 281-283.
- SCUDIERO, D. & STRAUSS, B. 1976. Increased repair in DNA growing point region after treatment of human lymphoma cells with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Mutat. Res.*, 35: 311-324.
- SILVERMAN, M., ZIEG, J., HILMEN, M. & SIMON, M. 1979. Phase variation in *Salmonella*: genetic analysis of a recombinational switch. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76: 391-395.
- ZIEG, J., SILVERMAN, M., HILMEN, M. & SIMON, M. 1978. The mechanism of phase variation. In: MILLER, J. H. & REZNIKOFF, W. S. (Eds.), *The Operon*: 411-423. Cold Spring Harbor Laboratory. New York.
- ZUSMAN, D. R. 1979. Genetic approaches to the study of development in the myxobacteria. In: LEIGHTON, T. & LOOMIS, W. F. (Eds.), *The Molecular Genetics of Development*: 41-78. Academic Press. New York.