



ISSN 1727-1320 (Print),
ISSN 2308-6459 (Online)

В Е С Т Н И К ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

PLANT PROTECTION NEWS

2025 TOM
VOLUME 108 ВЫПУСК
ISSUE 4



Санкт-Петербург
St. Petersburg, Russia

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ РОЗОВОГО БАКТЕРИОЗА ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ И РЖИ *ERWINIA RHAPONTICI* К АНТИБИОТИКАМ

И.С. Авдеев^{1,2}, А.Н. Игнатов², О.Ю. Словарева^{1,2*}

¹Всероссийский центр карантина растений, Быково

²Российский университет дружбы народов, Москва

*ответственный за переписку, e-mail: slovareva.olga@gmail.com

Условно-патогенная бактерия *Erwinia rhapontici* вызывает розовый бактериоз зерна пшеницы и ржи, существенно снижая качество зерновой продукции, что ограничивает экспорт зерна из Российской Федерации. Выделение чистой культуры бактерии необходимо для эффективной диагностики патогена с целью предотвращения его распространения. Присутствие *E. rhapontici* в зараженном растении в составе бактериального комплекса требует использования селективных факторов, таких как антибиотики. Изолируемый объект должен быть устойчивым к антибиотикам, используемым в питательной среде. В настоящем исследовании проведено определение устойчивости штаммов VNIKR-B-0065 из *Sorbus aucuparia* и VNIKR-B-0102 из *Triticum durum* к различным антибиотикам с применением диско-диффузионного метода и метода жидких сред. При использовании дисков с антибиотиками, наименьший уровень ингибирования роста целевой бактерии отмечен в вариантах с тилозином и ампициллином, что делает их перспективными для добавления в состав селективной питательной среды. Энрофлоксацин, цефтазидим, амикацин, ципрофлоксацин, меропенем, цефоперазон и тетрациклин статистически достоверно ингибировали рост *E. rhapontici*. Меропенем и энрофлоксацин подавляли рост патогена сильнее всего. В жидкой среде в присутствии 2,3,5-трифенилтетразолия хлористого как стандартного индикатора окислительно-восстановительной реакции, были определены перспективные для использования в составе селективной питательной среды антибиотики и установлены их оптимальные концентрации, не влияющие на рост целевой бактерии. Ими являются ампициллин 0.1 мг/л, бацитрацин 100 мг/л, ванкомицин 0.1 мг/л, касугамицин 25 мг/л, новобиоцин 2.5 мг/л, пенициллин G 3 мг/л, тетрациклин 50 мг/л и тилозин 50 мг/л. Отмечено количественное различие в устойчивости к антибиотикам между двумя штаммами *E. rhapontici*, что может быть связано с их специфическими генетическими свойствами. Полученные результаты заложили основу для исследования большого числа изолятов *E. rhapontici*, для разработки окончательного состава селективной среды.

Ключевые слова: бактериозы зерновых, выделение бактерий, селективная среда, фитосанитарные требования, карантин растений, диагностика

Поступила в редакцию: 03.09.2025

Принята к печати: 05.12.2025

Введение

Розовый бактериоз зерна пшеницы и ржи поражает колосья и зерно пшеницы, ржи и других злаков. Зерновки приобретают розовый цвет и становятся непригодными как для использования в продовольственных и фуражных целях (McMullen et al., 1984), так и в качестве семенного материала (Luisetti, Rapilly, 1967; Huang, Erickson, 2004). Возбудителем болезни является энтеробактерия *Erwinia rhapontici* (Millard 1924) Burkholder 1948 (далее – *E. rhapontici*), большинство штаммов которой вырабатывают водорастворимый розовый пигмент ферророзамин А (proferrosamine/ferrosamine A), хелатирующий ионы железа и обуславливающий появление розовой окраски пораженных растений (Born et al., 2016). Последнее исследование показало, что фитопатоген может быть выделен из зерновых культур без явных признаков бактериоза (Slovareva et al., 2025).

Поскольку присутствие *E. rhapontici* в сельскохозяйственной продукции регулируется фитосанитарными требованиями ряда стран, осуществляющих импорт зерна из Российской Федерации (Словарева, 2020), возникает

необходимость в разработке эффективных методов идентификации этой бактерии. Одним из ключевых методов, позволяющих подтвердить присутствие в образце жизнеспособного фитопатогена, является метод изоляции чистой культуры (Десятерик и др., 2023; Игнатьева, Словарева, 2024). В то же время, при попытках выделения *E. rhapontici* часто возникают проблемы, вызванные преобладанием в растительном образце сапротрофных бактерий, активно растущих на питательной среде, и замедляющих или полностью подавляющих рост *E. rhapontici*. Их присутствие увеличивает время, необходимое для появления визуально-идентифицируемых колоний патогена, загрязняет чистую культуру и затрудняет проведение последующих этапов анализа. Отмечено, что *E. rhapontici* выделяют из растительных образцов совместно с другими представителями бактериального патоконсоциума (Лазарев и др., 2020; Дымнич, Глинская, 2022).

В сложившихся условиях становится необходимой разработка селективной питательной среды, ингибирующей рост сопутствующих бактерий и поддерживающей

быстрый рост *E. rhapontici*. Одним из ключевых этапов разработки селективной среды является выбор антибиотиков, не влияющих на целевой объект, и определение наиболее эффективных селективных концентраций действующих бактерицидных компонентов среды (Kawanishi et al., 2011). Только те из них, которые не оказывают ингибирования на объект, и в то же время полностью ингибируют рост сопутствующих микроорганизмов, могут быть использованы в составе селективной среды.

Ранее было показано, что некоторые штаммы *E. rhapontici* проявляют устойчивость к амоксициллину,

Материалы и методы исследования

В качестве тест-объектов использовали выделенные в РФ штаммы VNIKR-B-0065 и VNIKR-B-0102 *E. rhapontici*, идентифицированные по сходству фенотипических, физиологических и молекулярно-генетических признаков с типовым штаммом вида DSM 4484 (Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Германия). Детальная информация о происхождении штаммов представлена в Табл. 1.

В исследовании использовали два метода определения устойчивости *E. rhapontici* к антибиотикам: диско-диффузионный метод и метод определения эффективной концентрации в жидкой среде.

Диско-диффузионный метод

Диско-диффузионный метод определения чувствительности к антибиотикам основан на способности антибактериального препарата диффундировать из пропитанных ими бумажных дисков в питательную среду, угнетая рост микроорганизмов, посеянных на поверхности агара (Семина и др., 2004; Thornberry, 1950; De Beer, Sherwood, 1945).

В опыте использовали диски с антибиотиками производства ООО «Научно-Исследовательский Центр Фармакотерапии» (Россия, Санкт-Петербург, ул. Белы Куна, д. 30А). Из набора индикаторных дисков ДИ-ПЛС-50-01 для определения чувствительности синегнойной палочки и ацинетобактеров к противомикробным лекарственным средствам использовали диски с цефтазидимом, амикацином, цiproфлоксацином, меропенемом, цефоперазоном и ампициллином. Из набора для определения чувствительности микроорганизмов к противомикробным препаратам для ветеринарных лабораторий использовали диски с тетрациклином, тилозином и энрофлоксацином.

Аликвоты 20 мкл суточной бактериальной суспензии штамма *E. rhapontici* VNIKR-B-0065, примерно соответствующей стандарту мутности 2 по Мак-Фарланду, наносили на поверхность чашки Петри диаметром 90 мм с агаризованной средой R2A (HiMedia Laboratories (Махараштра, Индия), модифицированной дополнительными 5 г/л агара. Суспензию равномерно распределяли по всей поверхности среды с помощью стерильного шпателя Дригальского. Затем, на поверхность агара помещали по 4 диска с одним видом антибиотика на одну чашку Петри в двух повторностях (всего 8 дисков на каждый вид антибиотика), чашки оборачивали пленкой «Parafilm» и инкубировали при 28 °C.

По истечении 1-х суток измеряли средний радиус ингибирования роста культуры *E. rhapontici* и вычисляли среднее значение для 8 повторов. Анализ данных проводили

ампициллину, бацитрацину, касугамицину, пенициллину G, амикацину, тетрациклину и тилозину (Авдеев, Словарева, 2024). Для определения перспектив использования указанных антибиотиков, а также других противомикробных средств при разработке селективной питательной среды требуется определение их предельных концентраций, не подавляющих рост *E. rhapontici*.

Цель исследования – определение устойчивости бактерии *E. rhapontici* к антибиотикам.

с использованием оригинальной программы, написанной на языке R 4.5.0 (The R Foundation, [сайт] URL: <https://cloud.r-project.org/>) и программного обеспечения RStudio Version: 2025.05.0+496 (2025 Posit Software., [сайт] URL: <https://posit.co/download/rstudio-desktop/>). Для проверки на принадлежность наблюдаемой выборки нормальной генеральной совокупности использовали критерий Шапиро-Уилка. Определение наличия статистически значимых различий между вариантами проводили методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с выделением гомогенных групп средних величин по критерию Дункана. Парные сравнения между вариантами дополнительно проводили с использованием теста Тьюки (Lee, 2022).

Метод оценки чувствительности бактерий к антибиотикам в жидкой среде

Для проведения исследования использовали базовую жидкую среду «Б» (Feistner et al., 1983), модифицированную путем добавления 2,3,5-трифенилтетразолия хлористого (далее – ТТХ). Модифицированная среда «Б» содержала 5 г/л $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, 0,5 г/л $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 5 г/л $(NH_4)_2SO_4$, 10 г/л сахарозы, а также 0,05 г/л ТТХ. Стерилизацию среды проводили автоклавированием при 121 °C в течение 20 минут, а ТТХ добавляли после охлаждения среды до 50 °C в виде 5 мл 1%-го водного раствора, стерилизованного путем фильтрации (Millex (Дармштадт, Германия)).

Среда «Б» прозрачна, бесцветна и подходит для культивирования целевой бактерии. Состав среды «Б» примечателен тем, что без добавления источника углевода к ней, *E. rhapontici* и другие энтеробактерии не способны расти, в отличие от базовых сред с добавлением экстрактов и пептона.

Культивирование *E. rhapontici* в жидкой среде осуществляли с использованием нескольких концентраций каждого антибиотика, чтобы затем подробнее изучить чувствительность бактерии к тем препаратам, которые могут быть перспективны для использования в составе селективной среды. Выбор антибиотиков проводили на основе состава селективных и экспериментальных сред, используемых при исследовании бактерий разных семейств (Табл. 2).

В пробирки типа «Falcon» объемом 15 мл помещали по 10 мл среды «Б», а затем добавляли антибиотик до определенной концентрации (Табл. 2). Пробирку со смесью среды и антибиотика перемешивали на центрифуге Вортекс, а затем содержимое распределяли в 1,5 мл пробирки типа Эппендорф, по 1 мл в каждую. Каждый вариант антибиотика в каждой концентрации исследовали в 3

повторностях для штаммов *E. rhapontici* VNIKR-B-0065 и VNIKR-B-0102 в соответствии со схемой (рис. 1).

Для посева бактерий в каждом повторе использовали по 10 мкл суточной бактериальной суспензии штаммов *E. rhapontici*, примерно соответствующей стандарту мутности 1 по Мак-Фарланду. В качестве отрицательного контроля контаминации среды с антибиотиками использовали по 10 мкл стерильной воды в 3 повторях (рис. 1).

Положительный контроль (без антибиотиков) состоял из 3 пробирок для каждого из исследуемых штаммов. Общий отрицательный контроль (без антибиотиков, без бактерий) состоял из 3 повторов (рис. 1).

Пробирки с опытными образцами и контролями с закрытой крышкой инкубировали в термостате при 28 °C в течение 3 суток.

Таблица 1. Штаммы бактерий, используемые в исследовании
Table 1. Bacteria strains, used in the study

| Штамм VNIKR-B [Strain VNIKR-B] | Выделен из: [Isolated from:] | Геоданные [Geodata] | Дата сбора образца [Date of sample collection] | Дата выделения штамма [Date of strain isolation] | Оригинатор штамма [Strain originator] |
|---|---|---|--|---|---|
| 0065 | <i>Sorbus aucuparia</i> , сухие соплодия [dry infructescence] | г. Коломна, берег р. Оки, част- ный сектор [Kolomna, bank of the Oka River, private sector] | Июнь 2020 [June 2020] | 11.06.2020 | Дренова Н.В. [Drenova N.V.] |
| 0102 | <i>Triticum durum</i> , сорт Синьора [cultivar Sin'ora] | Краснодарский край [Krasnodar region] | Июнь 2024 [June 2024] | 05.08.2024 | Авдеев И.С. [Avdeev I.S.] |

*VNIKR-B – Исследовательская коллекция фитопатогенных бактерий научно-методического отдела бактериологии ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»).

Таблица 2. Используемые антибиотики, их рабочие концентрации и свойства
Table 2. Antibiotics used, their working concentrations, and properties

| Антибиотик [Antibiotic] | Механизм действия антибиотика [Antibiotic property] | Содержание антибиоти- ка в дисках, мкг, или в среде, мг/л и ссылка на источник [Antibiotic content in disks, µg, or in the medi- um, mg/l, and reference] |
|--|--|---|
| Диско-диффузионный метод [Disk diffusion method] | | |
| Тилозин (ООО «НИЦФ», Россия) [Tylosin (ООО “NICF”, Russia)] | Ингибирование синтеза белка за счет связывания с рибосомой [Inhibition of protein synthesis due to binding to the ribosome] (Corcoran et al., 1977) | 30 |
| Энрофлоксацин (ООО «НИЦФ», Россия) [Enrofloxacin (ООО “NICF”, Russia)] | Ингибирование активности ДНК-гиразы [Inhibition of DNA gyrase activity] (Darby et al. 2023) | 5 |
| Цефтазидим (ООО «НИЦФ», Россия) [Ceftazidin (ООО “NICF”, Russia)] | Ингибирование синтеза клеточной стенки (через пенициллин-за- висимые связывающие белки – ПСБ) [Inhibits cell wall synthesis (via penicillin-dependent binding proteins – PDP)] (Darby et al. 2023) | 30 |
| Амикацин (ООО «НИЦФ», Россия) [Amikacin (ООО “NICF”, Russia)] | Ингибирование образования комплекса транспортной и ма- тричной РНК за счет связывания с 30S субъединицей рибосомы [Inhibition of transfer and messenger RNA complex formation due to binding to the 30S ribosome subunit] (Darby et al. 2023) | 30 |
| Ципрофлоксацин (ООО «НИЦФ», Россия) [Ciprofloxacin (ООО “NICF”, Russia)] | Ингибирование активности ДНК-гиразы [Inhibition of DNA gyrase activity] (Darby et al. 2023) | 5 |
| Меропенем (ООО «НИЦФ», Россия) [Meropenem (ООО “NICF”, Russia)] | Ингибирование синтеза клеточной стенки (через пенициллин-за- висимые связывающие белки – ПСБ) [Inhibits cell wall synthesis (via penicillin-dependent binding proteins – PDP)] (Darby et al. 2023) | 10 |
| Цефоперазон (ООО «НИЦФ», Россия) [Cefoperazone (ООО “NICF”, Russia)] | Ингибирование синтеза клеточной стенки (через пенициллин-за- висимые связывающие белки – ПСБ) [Inhibits cell wall synthesis (via penicillin-dependent binding proteins – PDP)] (Darby et al. 2023) | 75 |
| Ампициллин (ООО «НИЦФ», Россия) [Ampicillin (ООО “NICF”, Russia)] | Ингибирование синтеза клеточной стенки [Inhibits cell wall synthesis] (Peechakara et al. 2024) | 10 |
| Тетрациклин (ООО «НИЦФ», Россия) [Tetracycline (ООО “NICF”, Russia)] | Ингибирование синтеза белка за счет связывания с рибосомой [Inhibition of protein synthesis due to binding to the ribosome] (Nguyen et al., 2014) | 30 |

Продолжение таблицы 2 // Table 2 continued

| Антибиотик [Antibiotic] | Механизм действия антибиотика [Antibiotic property] | Содержание антибиотика в дисках, мкг, или в среде, мг/л и ссылка на источник [Antibiotic content in disks, µg, or in the medium, mg/l, and reference] |
|--|---|--|
| Метод оценки чувствительности бактерий к антибиотикам в жидкой среде [Method for assessing the sensitivity of bacteria to antibiotics in a liquid medium] | | |
| Амоксициллин («Central Drug Hause», Индия) [Amoxicillin («Central Drug House», India)] | Ингибирование синтеза клеточной стенки [Inhibition of cell wall synthesis] (Karunarathna et al., 2024) | 1; 2; 5 (Sodhi et al., 2020) |
| Ампициллин («Fisher BioReagents», Китай) [Ampicillin («Fisher BioReagents», China)] | Ингибирование синтеза клеточной стенки [Inhibition of cell wall synthesis] (Peechakara et al., 2024) | 0.1; 0.5; 1 (Simon, Ridge, 1974) |
| Бацитрацин («Sigma-Aldrich», США) [Bacitracin («Sigma-Aldrich», USA)] | Ингибирование синтеза клеточной стенки и белка [Inhibition of cell wall and protein synthesis] (Smith, Weinberg, 1962) | 25; 50; 100 (De Miguel et al., 2011) |
| Ванкомицин («Panreac AppliChem», Германия) [Vancomycin («Panreac AppliChem», Germany)] | Ингибирование синтеза клеточной стенки [Inhibition of cell wall synthesis] (Wilhelm, 1991) | 0.01; 0.05; 0.1 (Shigei et al., 2002) |
| Гентамицин (ООО НПП «ПанЭко», Россия) [Gentamicin (ООО NPP “PanEko”, Russia)] | Нарушение трансляции мРНК за счет связывания с рибосомой [mRNA translation disruption due to binding to the ribosome] (Chaves, Tadi, 2024) | 0.5; 1; 2.5 (Donnelly, Hartman, 1978) |
| Касугамицин («Sigma-Aldrich», США) [Kasugamycin («Sigma-Aldrich», USA)] | Ингибирование синтеза белка за счет связывания с рибосомой [Inhibition of protein synthesis by binding to the ribosome] (Schuwirth et al., 2006) | 15, 20, 25 (Adaskaveg et al., 2011) |
| Неомицин («Sigma-Aldrich», США) [Neomycin («Sigma-Aldrich», USA)] | Ингибирование синтеза белка за счет связывания с рибосомой [Inhibition of protein synthesis by binding to the ribosome] (Veirup, Kyriakopoulos, 2020) | 1; 2.5, 5 (Myers, Varela-Díaz, 1973) |
| Новобиоцин («Sigma-Aldrich», США) [Novobiocin («Sigma-Aldrich», USA)] | Ингибирование синтеза ДНК, РНК, клеточной стенки и белка [Inhibition of DNA, RNA, cell wall, and protein synthesis] (Smith., Davis, 1967) | 2, 2.5, 5 (Restaino et al., 1977) |
| Пенициллин G («Roth», Германия) [Penicillin G («Roth», Germany)] | Ингибирование синтеза клеточной стенки [Inhibition of cell wall synthesis] (Canzani, Aldeek, 2017) | 2; 3; 5 (Kneifel, Leonhardt, 1992) |
| Стрептомицин («Агрофарм», Россия) [Streptomycin («Agropharm», Russia)] | Ингибирование синтеза белка за счет связывания с рибосомой [Inhibition of protein synthesis due to binding to the ribosome] (Luzzatto et al., 1968) | 0.5, 1.25, 2.5, 10; 25; 50 (Schroeder et al., 2002) |
| Тетрациклин (АО «Биохимик», Россия) [Tetracycline (АО “Biokhimik”, Russia)] | Ингибирование синтеза белка за счет связывания с рибосомой [Inhibition of protein synthesis due to binding to the ribosome] (Nguyen et al., 2014) | 10; 25; 50 (Schroeder et al., 2002) |
| Тилозин (ООО «НИТА-ФАРМ», Россия) [Tylosin (ООО “NI-TA-PHARM”, Russia)] | Ингибирование синтеза белка за счет связывания с рибосомой [Inhibition of protein synthesis due to binding to the ribosome] (Corcoran et al., 1977) | 50; 100; 200 (Карабанова, 2004) |
| Рифампицин («SRL», Индия) [Rifampicin («SRL», India)] | Ингибирование РНК-полимеразы [Inhibition of RNA polymerase] (Campbell et al., 2001) | 1; 2; 5; 10; 25; 50 (Athalye et al., 1981) |

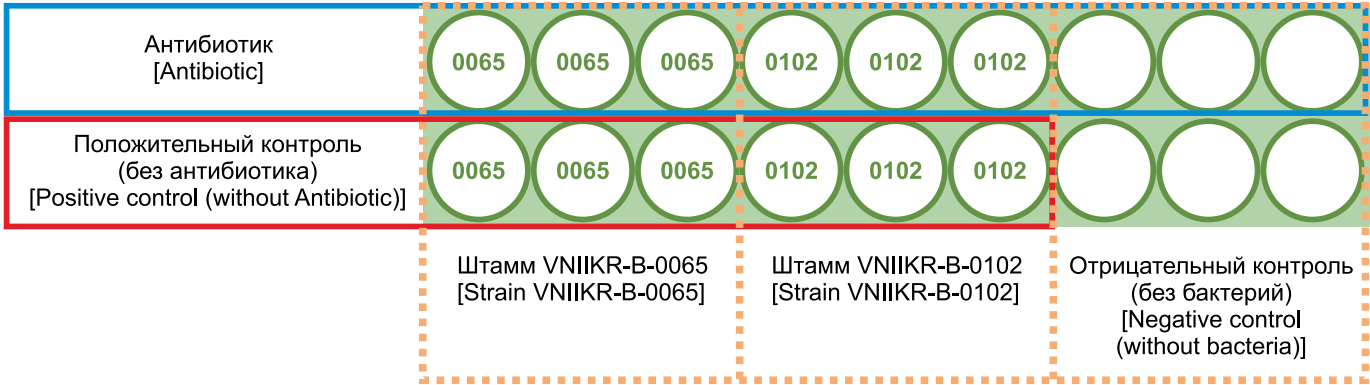


Рисунок 1. Схема опыта по определению устойчивости *Erwinia rhapontici* к антибиотикам
Figure 1. The scheme of experience in assessing the resistance of *Erwinia rhapontici* to antibiotics

Результаты исследования и обсуждение

Диско-диффузионный метод

По истечении 1-х суток инкубирования чашек Петри с культурой *E. rhapontici* и дисками с антибиотиками зафиксированы различные значения среднего радиуса ингибирования роста бактерии в зависимости от антибиотика. Применение критерия Шапиро-Уилка показало принадлежность каждой наблюдаемой выборки нормальной генеральной совокупности. Результаты проведения ANOVA показали наличие статистически значимых различий между вариантами ($F \text{ value} < 2.2 \cdot 10^{-16}$) (рис. 2).

Наибольший радиус ингибирования наблюдали в вариантах с меропенемом и энрофлоксацином (рис. 2). Наименьшим ингибирующим воздействием обладали тилозин и ампициллин (рис. 2).

Судя по результату выделения гомогенных групп методом Дункана, различия между цефтазидином и

цефоперазоном, и между тетрациклином и ципрофлоксацином были статистически недостоверными (рис. 2). Реакция бактерий к остальным антибиотикам была четко дифференцирована. Попарные сравнения средних значений между вариантами с использованием теста Тьюки (пороговое значение скорректированного $p\text{-value} - \text{adjusted } p\text{-value} = 0.05$) показали, что существенная разница в ингибировании роста *E. rhapontici* отсутствовала между антибиотиками ампициллин и тилозин, цефоперазон и цефтазидим, ципрофлоксацин и тетрациклин, цефоперазон и тетрациклин (Табл. 3).

Результаты показали достоверное выделение из общей группы антибиотиков тилозина, ампицилина и амикацина, как не оказывающих в диагностической концентрации существенного ингибирующего действия на бактерии (рис. 2).

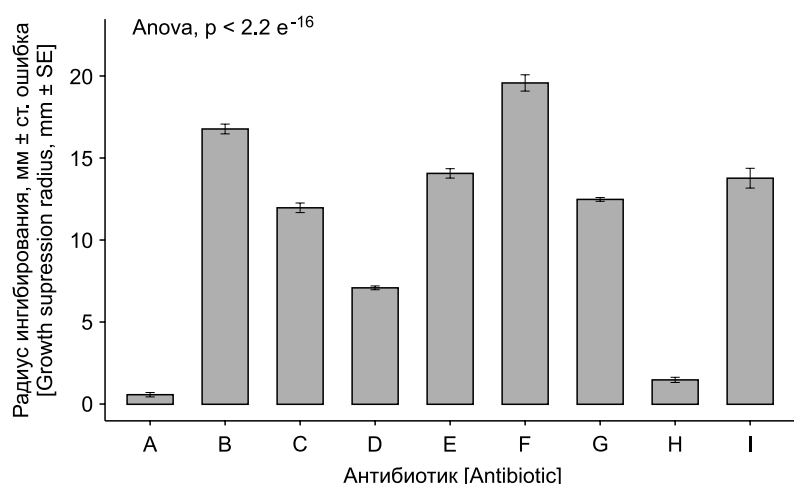


Рисунок 2. Ингибирование роста культуры *Erwinia rhapontici* различными антибиотиками при использовании диско-диффузионного метода.

Примечание: А – тилозин, В – энрофлоксацин, С – цефтазидим, D – амикацин, Е – ципрофлоксацин, F – меропенем, G – цефоперазон, H – ампициллин, I – тетрациклин

Figure 2. Growth inhibition of *Erwinia rhapontici* culture on an antibiotic in paper disk plating method.

Note: A – tylosine, B – efloxacin, C – eftazidime, D – amikacin, E – cyprofloxacin, F – meropenem, G – cefoperazone, H – ampicillin, I – tetracycline

Таблица 3. Попарное сравнение средних значений радиуса ингибирования роста *Erwinia rhapontici* между вариантами с использованием теста Тьюки

Table 3. Results of a pairwise comparison of the average values of the radius of *Erwinia rhapontici* growth inhibition between variants using the Tukey test

| Пары вариантов [Pairs of options] | Разница между средними значениями двух сравниваемых групп [The difference between the average values of the two groups being compared] | Скорректированное значение p-value [Adjusted p-value] |
|--------------------------------------|---|--|
| B-A | 16.2750 | $1.53 \cdot 10^{-11}$ |
| C-A | 11.4375 | $1.53 \cdot 10^{-11}$ |
| D-A | 6.4875 | $1.53 \cdot 10^{-11}$ |
| E-A | 13.4375 | $1.53 \cdot 10^{-11}$ |
| F-A | 18.9750 | $1.53 \cdot 10^{-11}$ |
| G-A | 11.9125 | $1.53 \cdot 10^{-11}$ |
| H-A | 0.9375 | 0.459463 |
| I-A | 13.2125 | $1.53 \cdot 10^{-11}$ |
| C-B | -4.8375 | $1.54 \cdot 10^{-11}$ |
| D-B | -9.7875 | $1.53 \cdot 10^{-11}$ |
| E-B | -2.8375 | $5.97 \cdot 10^{-07}$ |
| F-B | 2.7000 | $2.05 \cdot 10^{-06}$ |
| G-B | -4.3625 | $1.6 \cdot 10^{-11}$ |
| H-B | -15.3375 | $1.53 \cdot 10^{-11}$ |
| I-B | -3.0625 | $7.78 \cdot 10^{-08}$ |
| D-C | -4.9500 | $1.54 \cdot 10^{-11}$ |
| E-C | 2.0000 | 0.000782 |
| F-C | 7.5375 | $1.53 \cdot 10^{-11}$ |
| G-C | 0.4750 | 0.974797 |

Продолжение таблицы 3 // Table 3 continued

| Пары вариантов [Pairs of options] | Разница между средними значениями двух сравниваемых групп [The difference between the average values of the two groups being compared] | Скорректированное значение p-value [Adjusted p-value] |
|--------------------------------------|---|--|
| H-C | -10.5000 | 1.53e ⁻¹¹ |
| I-C | 1.7750 | 0.004347 |
| E-D | 6.9500 | 1.53e ⁻¹¹ |
| F-D | 12.4875 | 1.53e ⁻¹¹ |
| G-D | 5.4250 | 1.53e ⁻¹¹ |
| H-D | -5.5500 | 1.53e ⁻¹¹ |
| I-D | 6.7250 | 1.53e ⁻¹¹ |
| F-E | 5.5375 | 1.53e ⁻¹¹ |
| G-E | -1.5250 | 0.024465 |
| H-E | -12.5000 | 1.53e ⁻¹¹ |
| I-E | -0.2250 | 0.999861 |
| G-F | -7.0625 | 1.53e ⁻¹¹ |
| H-F | -18.0375 | 1.53e ⁻¹¹ |
| I-F | -5.7625 | 1.53e ⁻¹¹ |
| H-G | -10.9750 | 1.53e ⁻¹¹ |
| I-G | 1.3000 | 0.093749 |
| I-H | 12.2750 | 1.53e ⁻¹¹ |

Примечание: А – тилозин, В – энрофлоксацин, С – цефтазидим, D – амикацин, E – ципрофлоксацин, F – меропенем, G – цефоперазон, H – ампициллин, I – тетрациклин, пороговое значение скорректированного p-value = 0.05. Цветом выделены пары вариантов, для которых разница не существенна.

Note: A – tylosine, B – efloxacin, C – eftazidime, D – amikacin, E – cyprofloxacin, F – meropenem, G – cefoperazone, H – ampicillin, I – tetracycline, threshold of adjusted p-value = 0.05.

The color indicates pairs of options for which the difference is not significant.

Поскольку задачей опыта являлось выявление антибиотиков, не подавляющих или в меньшей степени подавляющих рост *E. rhapontici*, то можно сделать вывод, что ампициллин и тилозин являются перспективными антибиотиками для включения в состав селективной среды. Кроме того, у ампициллина и тилозина различный механизм действия – ампициллин ингибирует синтез клеточной стенки (Реечакара et al., 2024), а тилозин вызывает ингибирование синтеза белка за счет связывания с рибосомой (Corcoran et al., 1977). В связи с этим, указанные антибиотики, вероятно, целесообразно использовать в селективной среде в сочетании друг с другом. Предварительные эксперименты показали отсутствие синергизма в действии ампициллина и тилозина в отношении *E. rhapontici*.

Тем не менее, в силу ограничения, заложенного методикой диско-диффузионного метода (инвариантность содержания антибиотиков), полученный результат не позволяет судить о том, в какой концентрации следует добавлять эти антибиотики в питательную среду для придания ей селективных свойств при изоляции *E. rhapontici*.

Определение значений необходимых концентраций представлено в результатах опыта с жидкой средой с расширенным спектром антибиотиков. На основе положительного результата, полученного диско-диффузионным методом для тилозина, ампициллина и некоторых других антибиотиков, они также были использованы для альтернативного метода анализа.

Метод оценки чувствительности бактерий к антибиотикам в жидкой среде

В результате проведения опыта отмечено, что индикатор ТТХ успешно выявляет развитие микроорганизмов в жидкой среде «Б», окрашивая ее в яркий красный цвет. При отсутствии роста микроорганизмов (т.е. прохождения

окислительно-восстановительных реакций), среда остается бесцветной, что наглядно демонстрировали отрицательные контроли.

На основании наблюдений за реакцией окрашивания жидких сред в опытных и контрольных вариантах вследствие добавления ТТХ, разработана простая балльная шкала оценки результатов (рис. 3).

Результаты применения метода с жидкими средами для определения устойчивости *Erwinia rhapontici* к антибиотикам представлены в Табл. 4.

Рисунок 3. Шкала оценки влияния антибиотиков на рост бактерий в жидкой среде с использованием 2,3,5-трифенилтетразолия хлористого.

Примечание: 0 – окраска отсутствует (отсутствует размножение бактерий), 1 – окраска средней интенсивности (отмечено частичное подавление размножения бактерий), 2 – окраска интенсивная (интенсивное размножение бактерий)

Figure 3. Scale for assessing the effect of antibiotics on bacterial growth in a liquid medium using 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride.

Note: 0 – no coloration (no bacterial reproduction), 1 – medium-intensity coloration (partial suppression of bacterial reproduction), 2 – intense coloration (intensive bacterial reproduction)

Таблица 4. Реакция *Erwinia rhapontici* на антибиотики в различных концентрациях при культивировании в жидкой среде «Б» с использованием 2,3,5-трифенилтетразолия хлористого в качестве индикатора роста**Table 4.** Reaction of *Erwinia rhapontici* to antibiotics at various concentrations when cultured in liquid medium “B” using 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a growth indicator

| Антибиотик [Antibiotic] | Штамм VNIKR-B-0065 [Strain VNIKR-B-0065] | | | Штамм VNIKR-B-0102 [Strain VNIKR-B-0102] | | |
|-----------------------------|---|------|-----|---|------|-----|
| | Концентрации антибиотиков, мг/л [Concentrations of antibiotics, mg/l] | | | | | |
| Амоксициллин [Amoxicillin] | 1 | 2 | 5 | 1 | 2 | 5 |
| Ампициллин [Ampicillin] | 0.1 | 0.5 | 1 | 0.1 | 0.5 | 1 |
| Бацитрацин [Bacitracin] | 25 | 50 | 100 | 25 | 50 | 100 |
| Ванкомицин [Vancomycin] | 0.01 | 0.05 | 0.1 | 0.01 | 0.05 | 0.1 |
| Гентамицин [Gentamicin] | 0.5 | 1 | 2.5 | 0.5 | 1 | 2.5 |
| Касугамицин [Kasugamycin] | 15 | 20 | 25 | 15 | 20 | 25 |
| Неомицин [Neomycin] | 1 | 2.5 | 5 | 1 | 2.5 | 5 |
| Новобиоцин [Novobiocin] | 2 | 2.5 | 5 | 2 | 2.5 | 5 |
| Пенициллин G [Penicillin G] | 2 | 3 | 5 | 2 | 3 | 5 |
| Рифампицин [Rifampicin] | 1 | 2 | 5 | 1 | 2 | 5 |
| Стрептомицин [Streptomycin] | 10 | 25 | 50 | 10 | 25 | 50 |
| | 0.5 | 1.25 | 2.5 | 0.5 | 1.25 | 2.5 |
| Тетрациклин [Tetracycline] | 10 | 25 | 50 | 10 | 25 | 50 |
| | 10 | 25 | 50 | 10 | 25 | 50 |
| Тилозин [Tylosin] | 50 | 100 | 200 | 50 | 100 | 200 |

Примечание: темно-серым цветом выделены варианты, для которых согласно балльной системе оценки установлено значение 2 – окраска интенсивная, интенсивное размножение бактерий (бактерия устойчива к антибиотику); светло-серым цветом отмечены варианты, для которых согласно балльной системе оценки установлено значение 1 – окраска средней интенсивности, отмечено частичное подавление размножения бактерий; без выделения цветом – варианты, для которых согласно балльной системе оценки установлено значение 0 – окраска отсутствует, отсутствует размножение бактерий (чувствительность к антибиотику).

Note: The dark gray color indicates the options for which, according to the point system, the value is 2 – intense coloration, intense bacterial growth (the bacterium is resistant to the antibiotic); the light gray color indicates the options for which, according to the point system, the value is 1 – moderate coloration, partial suppression of bacterial growth; and the color is not indicated – the options for which, according to the point system, the value is 0 – no coloration, no bacterial growth (the bacterium is sensitive to the antibiotic).

Отмечено интенсивное окрашивание в жидкой среде у обоих штаммов *E. rhapontici* на уровне положительного контроля при следующих концентрациях антибиотиков, указанных в Табл. 5.

Использование указанных антибиотиков в их максимальных определенных концентрациях (табл. 5) может быть применено для придания селективных свойств питательной среде для изоляции *E. rhapontici*.

В то же время, тест в жидкой среде показал значительные отличия в чувствительности к антибиотикам у двух использованных штаммов *E. rhapontici*. При концентрации ампициллина 0.5 мг/л штамм VNIKR-B-0065 демонстрировал снижение роста, в то время как у штамма VNIKR-B-0102 рост ингибировался только при концентрации 1 мг/л. У штамма VNIKR-B-0102 ингибирование роста в вариантах с концентрациями гентамицина ниже 2.5 мг/л не отмечено, в то время как размножение бактерий штамма VNIKR-B-0065 было заметно снижено при 1 мг/л, а при 2.5 мг/л рост полностью отсутствовал.

Бактерии *E. rhapontici* проявили высокую чувствительность к неомицину. В концентрации 5 мг/л, неомицин полностью подавлял рост обоих штаммов, а рост штамма VNIKR-B-0065 полностью ингибирован уже при 2.5 мг/л указанного антибиотика. Штамм VNIKR-B-0065 *E. rhapontici* демонстрировал среднюю устойчивость к новобиоцину в концентрации 5 мг/л и пенициллину G в

Таблица 5. Концентрации антибиотиков, при которых у обоих штаммов *Erwinia rhapontici* не зафиксировано ингибирование роста**Table 5.** Concentrations of antibiotics at which both strains of *Erwinia rhapontici* showed no inhibition of growth

| Антибиотик [Antibiotic] | Концентрации в среде, мг/л [Concentrations in the medium, mg/l] |
|-----------------------------|--|
| Амоксициллин [Amoxicillin] | 5* |
| Ампициллин [Ampicillin] | 0.1 |
| Бацитрацин [Bacitracin] | 100* |
| Ванкомицин [Vancomycin] | 0.1* |
| Гентамицин [Gentamicin] | 0.5 |
| Касугамицин [Kasugamycin] | 25* |
| Новобиоцин [Novobiocin] | 2.5 |
| Пенициллин G [Penicillin G] | 3 |
| Рифампицин [Rifampicin] | 5 |
| Стрептомицин [Streptomycin] | 0.5 |
| Тетрациклин [Tetracycline] | 50 |
| Тилозин [Tylosin] | 50 |

Примечание: *Возможно, штаммы могут игнорировать и большие концентрации указанных антибиотиков.

Note: *It is possible that strains can ignore higher concentrations of these antibiotics.

концентрации 5 мг/л, в отличие от штамма VNIKR-B-0102, показавшим устойчивость в указанных вариантах.

Штамм VNIKR-B-0065 показал полную устойчивость к концентрациям рифампицина до 5 мг/л, но при 10 мг/л указанного антибиотика рост бактерий уже был частично ингибирован, а при 25 мг/л – полностью подавлен. Рост штамма VNIKR-B-0102 был частично ингибирован при 10 и 25 мг/л рифампицина, и полностью ингибирован при 50 мг/л.

Заключение

В настоящем исследовании проведено определение устойчивости *E. rhapontici* к различным антибиотикам с применением диско-диффузионного метода и метода с использованием жидких сред.

В результате опыта, проведенного диско-диффузионным методом, можно сделать вывод о перспективности использования тилозина и ампициллина в составе селективной среды, поскольку с указанными антибиотиками зафиксирован наименьший радиус ингибирования роста целевой бактерии. Наибольшим ингибирующим воздействием на рост *E. rhapontici* обладали меропенем и энрофлоксацин.

Использование жидких сред позволило определить концентрации 9 из 13 испытанных антибиотиков, при которых ингибируется рост *E. rhapontici*. Установлена высокая устойчивость *E. rhapontici* к бацитрацину, ванкомицину, касугамицину, новобиоцину, тетрациклину и тилозину.

Доля устойчивых к тилозину бактерий, выделяемых из почвы и растений при отсутствии систематического применения этого антибиотика в животноводстве, составляет от 0.7 до 2.5 % (Onan, LaPara, 2003). В то же время, оценка частоты встречаемости природных изолятов фитопатогенных энтеробактерий восприимчивых к тетрациклину

Оба штамма *E. rhapontici* демонстрировали чувствительность к стрептомицину. В концентрациях 10 мг/л и выше рост обоих штаммов бактерии полностью ингибирован, а рост штамма VNIKR-B-0065 отсутствовал уже при 2.5 мг/л.

Штамм VNIKR-B-0065 демонстрировал чувствительность к тилозину в концентрациях выше 100 мг/л, в то время как штамм VNIKR-B-0102 был устойчив к указанному антибиотику в концентрациях до 200 мг/л.

составляет 70%, к ампициллину – 26%, амоксициллину – 21 % (Singh et al., 2021).

Различие в устойчивости между двумя штаммами *E. rhapontici* довольно высоко, что может быть связано с их биологическими особенностями. Штамм VNIKR-B-0065 изолирован из рябины в естественных условиях, что может объяснять повышенную чувствительность, в то время как штамм VNIKR-B-0102 изолирован с растения пшеницы, являющейся важной сельскохозяйственной культурой. Его повышенная устойчивость может объясняться длительным существованием в агробиоценозе, что иногда связано с воздействием различных антибактериальных средств, в том числе и антибиотиков. Данные результаты указывают на необходимость дополнительных тестирований большего разнообразия изолятов, выделенных как из сельскохозяйственных культур, так и из дикорастущих растений, чтобы иметь более точное представление об устойчивости *E. rhapontici* к антибиотикам.

Использование ампициллина (0.1 мг/л), бацитрацина (100 мг/л), ванкомицина (0.1 мг/л), касугамицина (25 мг/л), новобиоцина (2.5 мг/л), пенициллина G (3 мг/л), тетрациклина (50 мг/л) и тилозина (50 мг/л) может быть крайне эффективно при разработке селективной среды для изоляции *E. rhapontici*.

Благодарности

Авторы выражают благодарность старшему научному сотруднику ФГБУ «ВНИИКР» Дреновой Наталии Васильевне за предоставление для исследования штамма VNIKR-B-0065.

Работа выполнена в рамках Государственного задания, регистрационный номер ЕГИСУ НИОКТР 124022800050-6.

Библиографический список (References)

- Авдеев ИС, Словарева ОЮ (2024) Устойчивость *Erwinia rhapontici* (Millard) Burkholder к антибиотикам. *Фитосанитария Карантин растений* 4SB (20C):5. <https://doi.org/10.69536/FKR.2024.75.31.001>
- Десятерик АА, Словарева ОЮ, Кононова ЕП (2023) Изоляция возбудителя бурой бактериальной гнили влагаллища листа злаковых культур *Pseudomonas fuscovaginae* из семян. *Фитосанитария Карантин растений* 4(16):67–76. <https://doi.org/10.69536/d2760-4051-0503-z>
- Дымнич АС, Глинская ЕВ (2022) Видовой состав микроорганизмов трофической цепи: озимая рожь – злаковая тля. *Изв Саратов ун-та Нов сер Сер: Химия Биология Экология* 22(1):99–109. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-1-99-109>
- Игнатова ИМ, Словарева ОЮ (2024) Оценка оптимизированного метода изоляции культуры *Xanthomonas translucens* из образцов пшеницы. *Известия Оренбургского государственного аграрного университета* 6(110):15–24. <https://doi.org/10.37670/2073-0853-2024-110-6-15-24>
- Карабанова ОВ (2004) Разработка и испытание селективных питательных сред для культивирования *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Дисс ... к.вет.н.* Москва. 129 с.
- Лазарев АМ, Игнатов АН, Воронина МВ (2020) Бактериальный рак плодовых, ягодных и декоративных культур, вызываемый *Agrobacterium* spp. *Вестник защиты растений* 103(2):87–93. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-13571>
- Семина НА, Сидоренко СВ, Стречунский ЛС (2004) МУК 4.2. 1890-0.4 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания. Москва: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России 18–40.
- Словарева ОЮ (2020) Выявление и идентификация возбудителей бактериальных болезней пшеницы и ячменя в России. *Независимые микробиологические исследования* 7(1):1–12. <https://doi.org/10.18527/2500-2236-2020-7-1-1-12>
- Adaskaveg JE, Förster H, Wade ML (2011) Effectiveness of kasugamycin against *Erwinia amylovora* and its potential use for managing fire blight of pear. *Plant Dis* 95(4):448–454. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-10-0679>

- Athalye M, Lacey J, Goodfellow M (1981) Selective isolation and enumeration of actinomycetes using rifampicin. *J Appl Microbiol* 51(2):289–297
- Born Y, Remus-Emsermann MNP, Bieri M, Kamber T et al (2016) Fe²⁺ chelator proferrosamine A: a gene cluster of *Erwinia rhapontici* P45 involved in its synthesis and its impact on growth of *Erwinia amylovora* CFBP1430. *Microbiol* 162(2):236–245. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000231>
- Campbell EA, Korzheva N, Mustaev A, Murakami K et al (2001) Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial rna polymerase. *Cell* 104(6):901–12. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00286-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00286-0)
- Canzani D, Aldeek F (2017) Penicillin G's function, metabolites, allergy, and resistance. *J Nutr Hum Health* 1(1):28–40
- Chaves BJ, Tadi P (2025) Gentamicin. *StatPearls* PMID: 32491482
- Corcoran JW, Huber MLB, Huber FM (1977) Relationship of ribosomal binding and antibacterial properties of tylosin-type antibiotics. *J Antibiot* 30(11):1012–1014. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.30.1012>
- Darby EM, Trampari E, Siasat P, Gaya MS et al (2023) Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *Nat Rev Microbiol* 21(5):280–295
- De Beer EJ, Sherwood M.B (1945) The paper-disc agar-plate method for the assay of antibiotic substances. *J Bacteriol* 50(4):459–467
- De Miguel MJ, Marín CM, Muñoz PM, Dieste L et al (2011) Development of a selective culture medium for primary isolation of the main *Brucella* species. *JCM* 49(4):1458–1463. <https://doi.org/10.1128/jcm.02301-10>
- Donnelly LS, Hartman PA (1978) Gentamicin-based medium for the isolation of group D streptococci and application of the medium to water analysis. *Appl Environ Microbiol* 35(3):576–581
- Feistner G, Korth H, Ko H, Pulverer G et al (1983) Ferrosamine A from *Erwinia rhapontici*. *Curr Microbiol* 8(4):239–243. <https://doi.org/10.1007/BF01579553>
- The R Foundation. <https://cloud.r-project.org/> (06.06.2025)
- Posit Software, PBC formerly RStudio, PBC. <https://posit.co/download/rstudio-desktop/> (06.06.2025)
- Huang HC, Erickson RS (2004) Impact of pink seed of pea caused by *Erwinia rhapontici* in Canada. *Plant Pathol Bull* 13(4):261–266
- Karunaratna I, Hapuarachchi T, Gunasena P, Ekanayake U et al (2024) Comprehensive Review of Amoxicillin: Indications, Mechanism of Action, and Clinical Application. Conference: Matala Clinical Pharmacology. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.29682.31681>
- Kawanishi T, Shiraishi T, Okano Y, Sugawara K et al (2011) New Detection Systems of Bacteria Using Highly Selective Media Designed by SMART: Selective Medium-Design Algorithm Restricted by Two Constraints. *PLoS ONE* 6(1):e16512. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016512>
- Kneifel W, Leonhardt W (1992) Testing of different antibiotics against Gram-positive and Gram-negative bacteria isolated from plant tissue culture. *PCTOC* 29(2):139–144. <https://doi.org/10.1007/BF00033619>
- Lee SW (2022) Methods for testing statistical differences between groups in medical research: statistical standard and guideline of Life Cycle Committee. *LC* 2:e1. <https://doi.org/10.54724/lc.2022.e1>
- Luisetti J, Rapilly F (1967) Sur une altération d'origine bactérienne des graines de blé. *Ann Epiphyt Phytoenet* 18:483–493
- Luzzatto L, Apirion D, Schlessinger D (1968) Mechanism of action of streptomycin in *E. coli*: interruption of the ribosome cycle at the initiation of protein synthesis. *PNAS* 60(3):873–880. <https://doi.org/10.1073/pnas.60.3.873>
- McMullen MP, Stack RW, Miller JD, Bromel MC et al (1984) *Erwinia rhapontici*, a bacterium causing pink wheat kernels. *PROC N D ACAD SCI* 38(38):78
- Myers DM, Varela-Díaz VM (1973) Selective isolation of leptospiras from contaminated material by incorporation of neomycin to culture media. *Appl Microbiol* 25(5):781–786. <https://doi.org/10.1128/am.25.5.781-786.1973>
- Nguyen F, Starosta AL, Arenz S, Sohmen D et al (2014) Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms. *Biol Chem* 395(5):559–575. <https://doi.org/10.1515/hsz-2013-0292>
- Onan LJ, LaPara TM (2003) Tylosin-resistant bacteria cultivated from agricultural soil. *FEMS Microbiol Lett* 220(1):15–20. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00045-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00045-4)
- Peechakara BV, Basit H, Gupta M (2023) Ampicillin. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519569/> (05.03.2025)
- Restaino L, Grauman GS, McCall WA, Hill WM (1977) Effects of varying concentrations of novobiocin incorporated into two *Salmonella* plating media on the recovery of four Enterobacteriaceae. *Appl Environ Microbiol* 33(3):585–589. <https://doi.org/10.1128/aem.33.3.585-589.1977>
- Schroeder BK, Lupien SL, Dugan FM (2002) First report of pink seed of pea caused by *Erwinia rhapontici* in the United States. *Plant Dis* 86(2):188. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.2.188A>
- Schuwirth BS, Day JM, Hau CW, Janssen GR et al (2006) Structural analysis of kasugamycin inhibition of translation. *Nat Struct Mol Biol* 13(10):879–886
- Shigei J, Tan G, Shiao A, de la Maza LM et al (2002) Comparison of two commercially available selective media to screen for vancomycin-resistant enterococci. *Am J Clin Pathol* 117(1):152–155. <https://doi.org/10.1309/TWY5-04QE-9KV0-52MT>
- Singh BR, Sinha DK, Rajendar VO, Pawde AM et al (2021) Antimicrobial susceptibility of *Erwinia* and *Pectobacterium* associated with infections and diseases in humans, animals and birds. Technical Report N Clin./Epid./ICAR-IVRI/03/2021 <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.34346.95688>
- Simon A, Ridge EH (1974) The use of ampicillin in a simplified selective medium for the isolation of fluorescent pseudomonads. *J Appl Microbiol* 37(3):459–460. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1974.tb00464.x>
- Slovareva OY, Avdeev IS, Iaremko AB, Panchenko KV (2025) Characteristics of the strain VNIKR-B-0035 *Erwinia rhapontici* isolated from common barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Health and Quarantine* (4):44–53. <https://doi.org/10.69536/FKR.2025.46.28.005>
- Smith DH, Davis BD (1967) Mode of action of novobiocin in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 93(1):71–79. <https://doi.org/10.1128/jb.93.1.71-79.1967>
- Smith JL, Weinberg ED (1962) Mechanisms of antibacterial action of bacitracin. *Microbiol* 28(3):559–569
- Sodhi KK, Kumar M, Balan B, Dhulaniya AS et al (2020) Isolation and characterization of amoxicillin-resistant bacteria and amoxicillin-induced alteration in its protein

profiling and RNA yield. *Arch Microbiol* 202(2):225–232. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01737>

Thornberry HH (1950) A paper-disk plate method for the quantitative evaluation of fungicides and bactericides. *Phytopathol* 40(5):419–429

Veirup N, Kyriakopoulos C (2025) Neomycin. In: StatPearls <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560603/> (05.03.2025)

Wilhelm MP (1991) Vancomycin. *Mayo Clin Proc* 66(11):1165–1170

Translation of Russian References

Avdeev IS, Slovareva OY (2024) Resistance of *Erwinia rhapontici* (Millard) Burkholder to antibiotics. *Plant Health and Quarantine* 4SB(20C):5 (In Russian) <https://doi.org/10.69536/FKR.2024.75.31.001>

Desyaterik AA, Slovareva OY, Kononova EP (2023) Isolation of sheath brown rot pathogen *Pseudomonas fuscovaginae* from seeds. *Plant Health and Quarantine* 4(16):67–76 (In Russian) <https://doi.org/10.69536/d2760-4051-0503-z>

Dymnich AS, Glinskaya EV (2022) Species composition of microorganisms in the trophic chain: winter rye – cereal aphid. *Izv Sarat Univ Chemistry Biology Ecology* 22(1):99–109 (In Russian) <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-1-99-109>

Ignatyeva IM, Slovareva OY (2024) Evaluation of optimized *Xanthomonas translucens* culture isolation method from wheat samples. *Izvestia Orenburg State Agrarian University* 6(110):15–24. (In Russian) <https://doi.org/10.37670/2073-0853-2024-110-6-15-24>

Karabanova OV (2004) Development and Testing of Selective Nutrient Media for the Cultivation of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Diss. ... Cand. Sci. (Veterinary). Moscow. 129 p. (In Russian)

Lazarev AM, Ignatov AN, Voronina MV (2020) Crown gall disease of fruit trees, berry plants and ornamentals caused by *Agrobacterium* spp. *Plant Protection News* 103(2):87–93 (In Russian) <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-13571>

Semina NA, Sidorenko SV, Strachunskiy LS (2004) MUK 4.2. 1890-0.4 Determination of the Sensitivity of Microorganisms to Antibacterial Drugs: Methodological Guidelines. Moscow: Federal Center for State Sanitary and Epidemiological Surveillance of the Russian Ministry of Health 18–40 (In Russian)

Slovareva OY (2020) Detection and identification of wheat and barley phytopathogens in Russia. *MIR Journal* 7(1):1–12 (In Russian) <https://doi.org/10.18527/2500-2236-2020-7-1-1-12>

Plant Protection News, 2025, 108(4), p. 245–254

OECD+WoS: 1.06+QU (Microbiology), 4.01+AH (Agriculture, Multidisciplinary)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2025-108-4-17334>

Full-text article

ASSESSMENT OF ANTIBIOTIC RESISTANCE IN *ERWINIA RHAPONTICI*, THE CAUSAL AGENT OF PINK GRAIN OF CEREALS

I.S. Avdeev^{1,2}, A.N. Ignatov², O.Y. Slovareva^{1,2*}

¹All-Russian Plant Quarantine Center (FGBU “VNIKR”), Bykovo, Russia

²RUDN University, Moscow, Russia

*corresponding author, e-mail: slovareva.olga@gmail.com

The opportunistic bacterium *Erwinia rhapontici* causes pink bacteriosis of wheat and rye grain, significantly reducing the quality of grain products and limiting grain export. Isolation of pure bacterial culture is necessary for effective diagnostics, required for disease prevention. Presence of *E. rhapontici* in infected plants as a part of bacterial complex, requires selective factors, such as antibiotics. Resistance of *E. rhapontici* strains VNIKR-B-0065 from *Sorbus aucuparia* and VNIKR-B-0102 from *Triticum durum* to various antibiotics was determined. When using disks with antibiotics, the lowest inhibition level of the bacterial growth was noted in the cases of tylosin and ampicillin, which makes them promising for the selective medium. Enrofloxacin, ceftazidime, amikacin, ciprofloxacin, meropenem, cefoperazone and tetracycline statistically significantly inhibited the growth of *E. rhapontici*. Meropenem and enrofloxacin suppressed the growth of the pathogen the most. In liquid medium with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (standard indicator of the oxidation-reduction reaction), antibiotics promising for use in the selective nutrient medium were determined and their optimal concentrations that do not affect the growth of the target bacteria were established. These are ampicillin 0.1 mg/L, bacitracin 100 mg/L, vancomycin 0.1 mg/L, kasugamycin 25 mg/L, novobiocin 2.5 mg/L, penicillin G 3 mg/L, tetracycline 50 mg/L, and tylosin 50 mg/L. A quantitative difference in antibiotic resistance was noted between the two strains of *E. rhapontici*, which may be due to their specific genetic properties. The results obtained laid the foundation for the study of a large number of *E. rhapontici* isolates to develop the final composition of the selective medium.

Keywords: bacteriosis of grain crops, isolation of bacteria, selective media, phytosanitary requirements, plant quarantine, diagnosis

Submitted: 03.09.2025

Accepted: 05.12.2025