

PENGENDALIAN PENYAKIT PASCA PANEN, *PENICILLIUM EXPANSUM* DENGAN SEL KHAMIR *RHODOTORULA GLUTINIS*¹

Sri Widyastuti²

ABSTRAK

Semakin berkembangnya kepedulian terhadap bahaya residu fungisida kimiawi pada bahan pangan disamping juga meningkatnya ketahanan patogen terhadap fungisida kimiawi, telah menggarisbawahi pentingnya penerapan teknik yang lebih aman dalam pengendalian penyakit pasca panen buahan. Penggunaan agensia biologis dalam penanganan penyakit pasca panen merupakan area baru yang menjajikan. Beberapa isolat mikroba telah terdaftar sebagai agensi biokontrol untuk penanganan penyakit pasca panen. Penelitian ini ditujukan untuk mempelajari pengendalian jamur patogen pasca panen buahan *Penicillium expansum* sel khamir *Rhodotorula glutinis*. Kemampuan sel khamir menghambat perkembangan jamur patogen diuji secara *in vitro* dalam media buatan dan *in vivo* menggunakan buah apel. Uji *in vitro* menunjukkan bahwa sel khamir menghambat perkecambahan spora dan perpanjangan tuba germinasi serta pertumbuhan miselium jamur. Uji daya hambat yang dilakukan pada luka buatan pada buah apel menunjukkan bahwa sel khamir (10^7 dan 10^8 sel ml^{-1}) dapat menghambat persentasi infeksi yang masing-masing sampai 30% dan 60% serta menghambat penyebaran luka infeksi yang disebabkan oleh jamur tersebut. Penambahan nutrisi dan kelembaban pada tempat infeksi dapat menurunkan daya hambat sel khamir tersebut. Dalam makalah ini disajikan pula konsep "mode of action" yang diduga berperan penting dalam proses penghambatan perkembangan jamur patogen oleh sel khamir. Indikasi mengarah pada kesimpulan bahwa kompetisi nutrisi dan ruang ikut berperan dalam proses penghambatan jamur patogen oleh sel khamir tersebut.

Kata kunci: *Rhodotorula glutinis*, *Penicillium expansum*, kompetisi area, kompetisi nutrisi, luka, apel

¹ Disampaikan dalam Gelar Teknologi dan Seminar Nasional Teknik Pertanian 2008 di Jurusan Teknik Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian UGM, Yogyakarta 18-19 November 2008

² PS Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Mataram, Indonesia

A. PENDAHULUAN

Selama lebih dari lima puluh tahun penggunaan fungisida kimiawi merupakan terobosan penting dalam pengendalian penyakit pasca panen buah (Wills et al., 2000). Semakin meningkatnya ketahanan patogen pasca panen terhadap fungisida kimiawi (Delp, 1980), dan meningkatnya kepedulian terhadap bahaya residu kimiawi (Janisiewicz, 1988), serta dimulainya pelarangan beberapa fungisida penting dalam bidang pasca panen (Janisiewicz, 1991b; Eckert, 1991) telah menggarisbawahi pentingnya pencarian cara-cara baru yang lebih aman dalam pengendalian penyakit pasca panen buah-buahan.

Penggunaan mikroba sebagai agensia biokontrol telah banyak dilaporkan (Spadaro dan Gullino, 2004). Sel khamir *Rh. Glutinis* telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan jamur *B. cinerea* secara *in vitro* (Widyastuti, 2005). Seperti diketahui bahwa pengaruh penghambatan suatu antagonis dapat tidak sama terhadap organisme lain mengingat kondisi alami dan fisiologis organisme yang kompleks. Oleh karena itu sifat antagonistik *Rh. Glutinis* terhadap jamur *P. expansum* perlu diuji baik secara *in vitro* maupun *in vivo* untuk memastikan bahwa sel khamir tersebut dapat digunakan sebagai agensia biologis.

Pengetahuan mengenai cara kerja agensia biologis dalam hal ini sangat diperlukan dalam mendukung aplikasi komersial, yaitu sebagai dasar dalam pengembangan kemampuan pengendaliannya, perumusan aplikasinya, kemungkinan kombinasi dengan cara-cara komersial yang telah ada, serta menjadi data pendukung dalam pendaftaran sebagai agensia komersial.

Tulisan ini memaparkan pengaruh sel khamir *Rh. Glutinis* terhadap pertumbuhan dan perkembangan jamur *P. Expansum* oleh secara *in vitro* dan *in vivo*. Penelitian dimaksudkan untuk mengetahui efisiensi daya hambat dan kemungkinan keterlibatan nutrisi dan air dalam mekanisme penghambatan tersebut.

B. BAHAN DAN METODA

1. Sel khamir dan spora pathogen

Sel khamir *Rh. Glutinis* adalah pemberian dari Dr. R.J. Holmes, Knoxfield, Victoria, Australia. Isolat disimpan pada suhu 4°C dalam medium agar nutrient (Nutrient Yeast Dextrose Agar, NYDA) yang mengandung 5 g kaldu nutrien, 5 g ekstrak khamir, 1- g D-glukosa dan 20 g agar per liter air. Larutan khamir dipersiapkan setelah isolat ditumbuhkan pada media tersebut selama 48 jam pada suhu 20°C. Isolat *P. expansum* disimpan pada suhu

4°C pada medium Potato Dextrose Agar (PDA, Oxoid) yang mengandung 40 g ekstrak kentang, 20 g glukosa dan 15 g agar per liter air. Spora dipanen dari inokulum jamur setelah inkubasi 10 hari pada suhu 20°C.

2. Pengaruh sel khamir terhadap produksi spora jamur *P. expansum* pada media agar

Pengaruh sel khamir terhadap produksi spora, dipelajari dengan menumbuhkan larutan spora pada PDA yang telah diinokulasikan dengan sel khamir. Dua ml dari larutan sel khamir (10^8 sel ml^{-1}) ditambahkan ke dalam 15 ml PDA bersuhu rendah (sebelum memadat) dan kemudian dituang ke dalam cawan Petri (90 mm). Sepersepuluh mililiter larutan spora (10^5 spora ml^{-1}) diteteskan pada permukaan agar tersebut. Sebagai kontrol, larutan spora pada volume dan konsentrasi yang sama juga diteteskan pada permukaan petri yang mengandung PDA tanpa sel khamir. Jumlah spora dihitung menggunakan Haemocytometer dari cuplikan agar (9 mm) yang telah dilarutkan dalam 1 ml AS.

3. Pengaruh sel khamir *Rh. glutinis* terhadap perkecambahan spora jamur *P. expansum* dalam media cair

Pengaruh sel khamir terhadap perkecambahan jamur *P. expansum* ditentukan mengikuti metode Huang *et al.* (1991). Suspensi spora jamur disiapkan dengan konsentrasi 10^5 spora ml^{-1} dan kemudian diambil satu ml untuk ditambahkan ke dalam 1 ml cairan buah apel. Cairan buah apel segar dipersiapkan dari hancuran buah apel segar yang di saring dengan kain muslin dan sentrifugasi (30 menit, 5000g) serta disterilkan dengan 0,2 μm filter membran (Millipore Corporation, Bedford). Lima puluh mikroliter larutan spora dalam cairan buah dipindahkan ke dalam “micro well plate” dan ditambahkan 50 μl larutan inokulum sel khamir kemudian diinkubasikan selama 18 jam pada suhu 20°C. Percobaan dibuat dalam lima ulangan. Persentase perkecambahan ditentukan dengan menghitung jumlah spora yang berkecambah dari 100 spora dalam kultur atau sejumlah spora yang berkecambah bila kurang dari 100. Pengukuran tuba kecambah ditentukan dari 50 buah spora yang berkecambah atau semua dari seluruh spora yang berkecambah bila spora yang berkecambah kurang dari 50 .

4. Pengaruh sel khamir terhadap pertumbuhan jamur *P. expansum* pada permukaan luka buah.

Permukaan buah apel disterilkan dengan 80% alkohol dan dikeringanginkan. Luka dibuat dengan menusuk buah menggunakan sebuah logam pejal steril dengan kedalaman 3 mm dan diameter 3 mm. Luka ini dibuat menirukan tusukan yang disebabkan oleh ranting-ranting seperti yang sering terjadi ketika tahap pemanenan. Pada setiap buah dibuat empat luka. Sebanyak 40 µl larutan sel khamir (10^7 dan 10^8 sel. ml⁻¹) dipipetkan ke dalam luka. Setelah 2 jam inkubasi, di luka yang sama ditambahkan 20 µl larutan spora jamur *P. expansum* pada konsentrasi 10^4 cfu ml⁻¹. Percobaan dilakukan terhadap lima buah apel dengan empat buah luka per satuan buah dan percobaan diulang sebanyak tiga kali.

5. Pengaruh penambahan nutrisi terhadap aktifitas penghambatan sel khamir terhadap *P. expansum*

a. Pengaruh penambahan cairan buah apel.

Cairan buah apel segar dipersiapkan seperti di atas. Cairan buah kemudian diencerkan dalam AS untuk mendapatkan konsentrasi 10, 25 dan 50%. Spora pathogen dilarutkan dalam cairan buah ini untuk mencapai konsentrasi $1-2 \times 10^5$ spora ml⁻¹. Sebagai kontrol, spora pada konsentrasi yang sama dilarutkan dalam AS saja tanpa cairan buah. Sebanyak 40 µl linokulum sel khamir pada konsentrasi 10^8 sel ml⁻¹ dipipetkan ke dalam luka. Dua jam kemudian luka yang sama diinokulasi dengan 20 µl larutan spora dalam cairan buah (perlakuan seperti di atas). Percobaan dilakukan menggunakan lima buah apel dengan empat buah luka pada setiap buah. Persentase luka yang menunjukkan gejala infeksi dan diameter luka (cara penentuan seperti di atas) ditentukan setelah buah disimpan selama tujuh hari pada suhu 20 C.

b. Pengaruh penambahan larutan sukrosa

Penambahan sukrosa dilakukan sama seperti penambahan cairan buah hanya larutan sukrosa dipersiapkan dengan konsentrasi 4 dan 8 %. Sebagai kontrol adalah larutan spora patogen yang dilarutkan dalam air tanpa sukrosa. Penentuan persentase infeksi dan diameternya dilakukan sama seperti diatas.

c. Pengaruh penambahan air

Air steril ditambahkan sebanyak 40 µl menggunakan pipet steril ke dalam luka sekali atau tiga kali sehari selama 7 hari inkubasi seperti diatas. Sebagai kontrol adalah luka buah tanpa penambahan air. Penentuan persentase dan diameter luka infeksi buah dilakukan sama seperti diatas.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengaruh sel khamir D20 terhadap produksi spora oleh jamur *P. expansum* pada media agar

Pada media agar, dalam waktu inkubasi 3 hari pada suhu 20°C, jamur *P. expansum* tumbuh pesat dan menghasilkan spora yang telah menutup seluruh medium pada cawan Petri berukuran 90 mm. Akan tetapi spora jamur yang ditumbuhkan pada media agar yang telah dicampur dengan larutan sel khamir D20 tidak menunjukkan adanya pertumbuhan dan juga tidak terlihat produksi spora sama sekali. Oleh karena itu perhitungan spora hanya dilakukan terhadap kontrol, yaitu jamur yang ditumbuhkan pada medium agar normal (tanpa penambahan sel khamir). Spora jamur yang ditumbuhkan pada medium agar yang tanpa sel khamir menunjukkan pertumbuhan normal, dengan jumlah spora mencapai 5×10^6 spora ml⁻¹.

2. Pengaruh sel khamir terhadap perkecambahan spora dan pertumbuhan jamur *P. expansum* dalam air dan cairan buah apel

Di dalam air destilat, persentase perkecambahan spora jamur *P. expansum*, yang digunakan dalam penelitian ini sangat rendah dengan pertumbuhan tuba kecambahnya lebih lambat dibanding spora yang ditumbuhkan dalam cairan buah apel (**Tabel 1**). Cairan buah sangat mendukung terjadinya perkecambahan dan pertumbuhan tuba kecambah. Akan tetapi penambahan sel khamir dalam cairan buah menghambat persentase perkecambahan dan memperlambat pertumbuhan tuba kecambah. Kemampuan sel khamir dalam menghambat perkecambahan spora dan perpanjangan kecambah jamur patogen ini boleh jadi merupakan kunci keberhasilan sel khamir tersebut dalam mengendalikan pertumbuhan jamur patogen pada buah. Terhambatnya perkecambahan tersebut dapat terjadi karena persaingan dalam penggunaan nutrisi antara sel khamir dengan spora jamur. Penelitian menggunakan sukrosa yang diberi label karbon radioisotop 14 (¹⁴C) menunjukkan bahwa sel-sel khamir dapat menggunakan senyawa gula lebih cepat dibanding spora yang berkecambah (Filonow *et al.*,

1996). Mekanisme yang pasti tentang bagaimana sel khamir tersebut dapat menghambat perkecambahan spora jamur patogen ini belum jelas, sehingga hal ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Tabel 1. Perkecambahan dan panjang tuba kecambah spora jamur dalam air, air dengan sel khamir *Rh. glutinis*, cairan buah apel, dan cairan buah dengan sel khamir.

Media	Perkecambahan (%)	Panjang tuba kecambah (μm)
air	0 a	-
air dan sel khamir	0 a	-
cairan buah*)	64,0 b	169,0 a
cairan buah + sel khamir	8,3 c	20,0b

*) 50% (v/v) cairan buah apel dalam air destilasi

Nilai adalah nilai rata-rata dari tiga ulangan

Angka pada kolom yang sama diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada $P \leq 0,05$

3. Pengaruh sel khamir terhadap pertumbuhan jamur *P. expansum* pada permukaan luka buah

Serangan jamur *P. expansum* pada buah apel ditandai dengan luka yang halus terkadang mengkerut pada fase lanjut. Luka berkembang baik secara lateral maupun internal kearah bagian dalam buah.

Sel khamir pada konsentrasi (10^7 dan 10^8 sel ml^{-1}) dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan jamur *P. expansum* pada luka buah apel pada suhu 20°C . Infeksi jamur *P. expansum* pada buah apel menyebabkan busuk yang nampak halus, sedikit mengkerut pada tahap lanjut, lunak, basah dan berwarna coklat pucat. Luka menyebar pada permukaan maupun pada jaringan sel dibawahnya menuju pada bagian tengah buah.

Pemberian sel-sel khamir pada luka buatan pada 2 jam sebelum inokulasi spora jamur, mampu menghambat persentase infeksi dan menghambat kecepatan penyebaran luka pada jaringan buah yang telah diinkubasikan selama 7 hari pada suhu 20°C (**Tabel 2**).

Tabel. 2. Penghambatan persentase infeksi yang disebabkan oleh jamur *P. expansum* pada luka buah apel oleh sel khamir *Rh. glutinis*

Sel khamir	Infeksi (%)	Diameter infeksi (mm)
Tanpa sel khamir	100 a	11,5 a
10 ⁷ (sel ml ⁻¹)	70 b	6,6 b
10 ⁸ (sel ml ⁻¹)	40 c	6,5 b

Angka adalah rata-rata dari lima ulangan buah (dengan empat buah luka pada tiap buah) Angka rata-rata pada kolom yang sama diikuti dengan huruf sama tidak berbeda nyata pada $P \leq 0,05$.

Kemampuan sel khamir dalam menghambat produksi spora bersama kemampuan menghambat perkecambahan dan perpanjangan tuba kecambah (**Tabel 1**) mungkin terlibat dalam mekanisme penghambatan pertumbuhan jamur patogen oleh sel khamir seperti yang terlihat pada **Tabel 2**. Guna memastikan penyebab gagalnya produksi spora oleh jamur tersebut, yang mungkin dapat disebabkan karena persaingan nutrisi atau senyawa penghambat semacam antifungal yang diproduksi oleh sel khamir, masih perlu penelitian lebih lanjut.

4. Pengaruh penambahan nutrisi terhadap daya hambat sel khamir terhadap *P. Expansum* pada buah.

Kompetisi nutrisi pada bagian luka di buah, telah disarankan terlibat dalam mekanisme penghambatan khamir *Debaryomyces hansenii* dalam pengendalian penyakit pasca panen jeruk (Wilson et al., 1991). Dalam penelitian penambahan 50 % cairan buah apel ke dalam larutan spora patogen telah dapat menurunkan aktifitas penghambatan persentase infeksi dari 60% menjadi 50% dan penghambatan penyebaran luka. Penghambatan sel khamir terhadap persentase infeksi spora yang dilarutkan dalam 100% cairan buah, menurun sampai 30% dibanding dengan spora patogen yang dilarutkan dalam air steril (**Tabel 3**).

Sedangkan penambahan sukrosa sampai 2% sudah dapat menurunkan aktifitas penghambatan sel khamir dari 60% menjadi 20%. Walaupun perubahan daya hambat ini tidak nampak pada penghambatan luas infeksi (**Tabel 4**).

Penambahan nutrisi dari luar sangat mungkin merangsang terjadinya perkecambahan spora patogen, sehingga meningkatkan potensi inokulum, atau menurunkan kompetisi antara sel-sel khamir dan spora yang berkecambah terhadap nutrisi yang tersedia di bagian luka, akibatnya nutrisi yang tersedia untuk pertumbuhan spora menjadi lebih mencukupi. Peningkatan konsentrasi nutrisi pada suatu media secara umum meningkatkan pertumbuhan

mycelial dari dan infeksi yang disebabkan oleh patogen fakultatif seperti *B. cinerea* (Blakeman dan Fokkema, 1982).

Tabel. 3. Pengaruh penambahan cairan buah terhadap sifat penghambatan *Rh glutinis* (10^8 sel $.ml^{-1}$) terhadap *P. expansum*. Buah diinkubasikan selama 7 hari pada $20^{\circ}C$.

Cairan buah (%)	Persentase infeksi (%)		Diameter. Infeksi (mm)	
	<i>P. expansum</i>	Sel khamir+ <i>P. expansum</i>	<i>P. expansum</i>	Sel khamir+ <i>P. expansum</i>
0	100,0ap	30,0aq	18,2ap	5,3aq
25	95,0ap	40,0aq	18,9ap	7,5aq
50	100,0ap	50,0bq	18,9ap	16,4bp
100	100,0ap	75,0bq	21,1ap	6,7ap

Nilai adalah rata-rata dari dua ulangan yang terdiri dari lima buah apel (dengan empat luka per buah). Nilai (untuk masing-masing parameter) di kolom yang sama diikuti oleh huruf (a,b) sama atau dalam baris yang sama diikuti oleh huruf (p,q) yang sama, tidak berbeda nyata pada $P \leq 0,05$.

Tabel.4. Pengaruh penambahan larutan sukrosa ke dalam larutan spora pathogen terhadap aktifitas penghambatan sel khamir *Rh glutinis* (10^8 cfu. ml^{-1}) terhadap *P. expansum* Buah diinkubasikan selama 7 hari pada $20^{\circ}C$.

sukrosa (%)	Persentase infeksi (%)		Diameter. Infeksi (mm)	
	<i>P. expansum</i>	Sel khamir+ <i>P. expansum</i>	<i>P. expansum</i>	Sel khamir+ <i>P. expansum</i>
0	100,0aA	20,0aB	23,5aA	3,7aB
1	100,0aA	40,0aB	40,0aA	5,0aB
2	100,0aA	80,0bA	30,5aA	8,3aB

Nilai adalah rata-rata dari dua ulangan yang terdiri dari lima buah apel (dengan empat luka per buah).

Nilai (untuk masing-masing parameter) di kolom yang sama diikuti oleh huruf sama (a,b) atau dalam baris yang sama huruf (p,q) yang sama tidak berbeda nyata pada $P \leq 0,05$.

Daya hambat khamir *Rh. glutinis* terhadap infeksi *P. Expansum* pada luka buah apel selama 4 hari inkubasi, tidak berkurang dengan 1 kali penambahan air ke dalam luka tersebut. Akan tetapi setelah tiga kali penambahan air dapat menurunkan daya hambat sampai 60% dan juga daya hambat terhadap penyebaran luas luka (**Tabel 5**). Kekeringan di bagian luka kemungkinan besar terlibat di dalam proses penghambatan tersebut, walaupun tidak merupakan satu-satunya faktor.

Tabel 5. Pengaruh penambahan air ke dalam luka buah apel yang dinokulasi dengan campuran spora pathogen dan sel khamir terhadap daya hambat sel khamir selama inkubasi (7 hari, 20°C)

Air ditambahkan	Persentase infeksi (%)		Diam. Infeksi (mm)	
	<i>P. expansum</i>	Sel khamir+ <i>P. expansum</i>	<i>P. expansum</i>	Sel khamir+ <i>P. expansum</i>
-	100,0ap	0,0aq	22,3ap	-
1x per hari	100,0ap	0,0aq	23,1ap	-
3x per hari	100,0ap	40,0aq	30,0bp	7q

Nilai adalah rata-rata dari dua ulangan yang terdiri dari lima buah apel (dengan empat luka per buah).

Nilai (untuk masing-masing parameter) di kolom yang sama diikuti oleh huruf sama (a,b) atau dalam baris yang sama huruf (p,q) yang sama tidak berbeda nyata pada $P \leq 0,05$.

D. KESIMPULAN

Sel khamir *Rh glutinis* pada konsentrasi 10^8 cfu.ml⁻¹ mampu menghambat pertumbuhan dan perkembangan infeksi oleh jamur pathogen pasca panen yaitu *P. expansum* di luka buah apel sampai sekitar 60%. Hasil-hasil percobaan yang dirangkum dalam tulisan ini, mengarahkan pada dugaan adanya keterlibatan kompetisi nutrisi serta air dalam penghambatan infeksi jamur *P. expansum* oleh sel khamir di bagian luka buah apel. Namun tidak juga menutup kemungkinan adanya keterlibatan faktor lain dalam mekanisme penghambatan tersebut, sehingga penelitian lebih lanjut dalam hal ini sangat diperlukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Blakeman, J.P dan Fokkema, N.J.1982. Potential for biological control of plant diseases on the phylloplane. *Annu. Rev. Phytopathol.* 20:167-192.
- Delp, C.J. 1980. Coping with resistance to plant disease control agents. *Plant Dis.* 64:652-657
- Eckert , J.W.1991. Role of chemical fungicides and biological control agents in post-harvest diseases control. In *Biological Control of Postharvest Diseases of Fruit and Vegetables*, Workshop Proc. Sheperdstown, W Va., Sept. 1990. US Dept. Agr. Res. Serv. Publ. 92:14-30.
- Filonow, A.B., Vishniac, H.S., Anderson, J.A., and Janisiewicz, W.J. 1996. Biological control of *Botrytis cinerea* in apple by yeasts from various habitats and their putative mechanism of antagonism. *Biological Control* 7:212-220.
- Huang, J, Deveral, B.J. and Morris, S.C. 1991. Promotion of infection of orange fruit by *Penicillium digitatum* with a strain of *Pseudomonas cepacia*. *Phytopathology.* 81(6):615-618.
- Janisiewicz, W.J. 1988. Biological control of postharvest diseases of pome fruits. *Phytopathology*75: 123-128.
- Janisiewicz, W.J. 1991. Control of Postharvest Diseases of Fruits with Biocontrol Agents. In *The Biological control of Plant Diseases. Proc. Int. Seminar “ Biological Control of Plant Diseases and virus Vectors*, MARC. Japan pp 57-68.
- Spadaro D and Gullino, M.L. 2004. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. *International Journal of Food Microbiology* 91(2):185-194.
- Thomson, W.T. 1991. *Agricultural chemicals. Book IV. Fungicides 1991, Revision.* Thomson Pub., Fresno, C.A. 198p.
- Widyastuti, S. 2005. Penghambatan penyakit pasca panen, *Botrytis cinera* pada loka buah apel oleh sel khamir *Rhodotorula glutinis* (H10): Kompetisi area dan nutrisi. *Agroteksos.* 15 (2): 114-120.
- Wills, R.B.H., Lee, T.H., McGlasson, B.W and hall, E.G. 2000. *Postharvest: An Introduction to the Physiology and Handling of Fruit and Vegetables.* UNSW, Sydney. Press.
- Wilson, C.L., Wisniewski, , M.E., Biles, C. McLaughlin, R.J., and Chalutz, E. 1991, Biological control of post-harvest diseases of fruit and vegetables: Alternatives to synthetic fungicides. *Crop protection* 10: 172-177.
- Zhao, Y., Tu, K., Shao, X., Jing, W., Su, Z. 2008. Effects of the yeast *Pichia guilliermondii* against *Rhizopus nigricans* on tomato fruit.