

(Phoma macdonaldii)

**Assessment of resistance of some sunflower cultivars to black stem disease
(*Phoma macdonaldii*)**

علی روستایی*

(*Phoma macdonaldii*)

Phoma macdonaldii

()

/ DK3825

/

()

/)

(r= /) (r=

(Hua and Ma, 1996) واز ایالات متحده

آمریکا (Acimovic, 1984) واز آمریکای جنوبی
(Maric et al., 1988) گزارش شده است.

از علائم مشخصه این بیماری ظهور لکه های نکروز
سیاه روی ساقه در اطراف محل اتصال دمبرگ به ساقه
می باشد و در پایه ساقه نکروز سیاه عمیق اطراف پایه
ساقه را فرا می گیرد. در محل اتصال طبق آفتاب گردان
به ساقه نیز این نکروز گسترش می یابد. معمولاً نکروز از
دمبرگ شروع و به طرف ساقه پیشروی کرده و ساقه را
در ارقام حساس فرا می گیرد. بلوغ زودرس گیاه که در
اثر این بیماری ایجاد می شود، سبب ۳۰-۱۰ درصد

بیماری ساق سیاه (Black stem) آفتاب گردان
(*Helianthus annuus*) به وسیله قارچ
(*Phoma macdonaldii*) از قارچ های پیکنیدار ایجاد
می شود (Boerema, 1970). فرم جنسی این قارچ
از آسکومسیت ها و از (*Leptosphaeria lindquistii*)
می باشد. (Frezzi, 1968) عامل بیماری از کشورهای
مختلف اروپائی یوگوسلاوی، بلغارستان،
مجارستان و رومانی، (Maric et al., 1988) کشورهای
آسیایی از جمله ایران (Madjidieh-Ghassemi., 1988)
پاکستان (Siddique-Mirza et al., 1988)، چین

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۱/۷/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۳۸۱/۴/۲۶

* استادیار مجتمع آموزشی ابوریحان - دانشگاه تهران.

آب حاوی یک میلیلیتر محلول غذایی (NPK 6-3-6 & micronutrients; Substral, France) تغذیه شدند.

قارچ مزبور در مرحله جنسی تولید آسک و آسکوسپور و در مرحله غیر جنسی تولید پیکنید و پیکنیدیوسپور می کند (شکل ۱). با توجه به این که این قارچ به راحتی روی محیط کشت تولید پیکنید می کند در این بررسی به عنوان مایه تلفیح از پکنیدیوسپورها استفاده شده است. به منظور تهیه جدایه تک اسپور قارچ نمونه های ساقه حاوی نکرور از مزارع آفتاب گردان جنوب فرانسه شهر تولوز جمع آوری شدند. سپس از نکرورهای ایجاد شده روی برگ، دمبرگ، پتیول کوتیلدون، طوقه و ساقه (شکل ۲ و ۳) نمونه برداری به عمل آمد. جهت تهیه جدایه تک اسپور قارچ، ابتدا قطعه ای از ساقه حاوی نکرور مشخصه بیماری ساق سیاه به اندازه ۵×۵ میلیمتر بریده شده و به طور سطحی به مدت پنج دقیقه در محلول هیپو کلریت سدیم (شش درجه کلرومتریك) آلودگی زدایی شد و بعد از سه بار شستشو با آب مقطر استریل روی محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar, 30 g/l) کشت شدند. بعد از هشت روز در انکوباتور در ۲۵ درجه سانتیگراد در شرایط تاریکی قارچ مزبور رشد و تولید میسلیم سفید رنگ نمود و به دنبال آن تشک های پتری در محیط متناوب تاریکی - روشنایی در انکوباتور قرار داده شدند (۲۵ درجه سانتیگراد و ۱۲ ساعت روشنایی به میزان $37 \mu E \cdot m^{-2} \cdot S^{-1}$ به وسیله لامپ های Philips TLD 15W33). در این شرایط جدایه ها تولید پیکنیدهای بالغ پر از پیکنیوسپور که از دهانه پیکنیدها همراه با ماده چسبناک زرد رنگ خارج می شوند نمود (Roustae, 1999). به دنبال آن یک سوسپانسیون پیکنیوسپور از یک قطعه از محیط کشت (یک سانتیمتر مربع) حاوی پیکنید در ده میلیلیتر آب مقطر استریل تهیه شد. کشت تک پیکنیوسپور (تک اسپور) با استفاده از روش (Barrault, 1989) به طور

خسارت خواهد شد (Penaud, 1996). کاهش میزان روغن (Maric et al., 1988) و وزن هزار دانه (Carson, 1991) توسط این بیماری نیز گزارش شده است. این قارچ با تولید میسلیم های درون سلولی و برون سلولی خسارات کمی و کیفی فراوانی وارد می کند (Roustee et al., 2000a). اگر چه استفاده از سموم شیمیایی از روش های مبارزه با این بیماری می باشد (Penaud, 1988)، ولی استفاده از ارقام مقاوم مناسب ترین راه مقابله با این بیماری است. ژنوتیپ های مختلف آفتاب گردان در مقابل این بیماری مقاومت های نسبی متفاوتی دارند (Roustae et al., 2000a). تنوع ژنتیکی در مزرعه نیز به وسیله پرس و همکاران (Peres et al., 1994) گزارش شده است. لذا با توجه به این موضوع به منظور معرفی ارقام مناسب، مقاومت ارقام مختلف در مقابل این بیماری در شرایط آزمایشگاهی در مراحل گیاهچه و پنجمین جفت برگ و مرحله گلدهی در این تحقیق ارزیابی شد.

این بررسی در آزمایشگاه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات انستیتوناسیونال پلی تکنیک (INP-ENSAT) در شهر تولوز فرانسه در سال ۱۳۷۸ انجام گرفت. بذر ده رقم آفتاب گردان (جدول ۱) در هیپو کلریت سدیم (شش درجه کلرومتریك) به مدت پنج دقیقه آلودگی زدایی شده و پس از سه بار شستشو در آب مقطر استریل در عمق دو سانتیمتر در گلدان های پلاستیکی (۴۰×۳۰×۲۵ cm) حاوی ورمیکولیت در هر گلدان تعداد ده بذر کشت گردید. گلدان های کشت شده به اطاق رشد با شرایط 1 ± 24 درجه سانتیگراد (۱۴ ساعت روشنایی) و 1 ± 17 درجه سانتیگراد (ده ساعت تاریکی) در ۸۵-۷۵ درصد رطوبت نسبی انتقال یافته و شدت نور معادل $200 \mu E \cdot m^{-2} \cdot S^{-1}$ توسط لامپ های Osmar-vialox NAV-T 600W تأمین شد. گلدان ها هر سه روز یکبار با ۵۰۰ میلیلیتر

آن ها به عنوان یک نمره برای هر گیاه در نظر گرفته شد. هر تکرار شامل ده گیاه بود که در یک مقیاس ۹-۱ (Roustae, 1999) برای نمره گذاری به صورت ۱ برای ۰-۵ درصد، ۲ برای ۱۰-۵ درصد، ۳ برای ۲۰-۱۰ درصد، ۴ برای ۳۰-۲۰ درصد، ۵ برای ۴۰-۳۰ درصد، ۶ برای ۶۰-۴۰ درصد، ۷ برای ۸۰-۶۰ درصد، ۸ برای ۱۰۰-۸۰ درصد سطح پتیول کوتیلدون نکروز و ۹ برای ۱۰۰ درصد سطح پتیول کوتیلدون نکروز و نکروز روی اپیکوتیل توسعه یافته است ارزیابی شدند. طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار (هر تکرار شامل یک گلدان حاوی ده گیاهچه دارای ۲۰ کوتیلدون) انجام گرفت.

به منظور مقایسه مقاومت نسبی ارقام در مرحله گیاهچه با گیاهان بالغ دو رقم مقاوم (آرگوس - DK 3825) و دو رقم حساس (آندوا - HA 89) در مرحله گیاهچه انتخاب شدند. سپس حساسیت آن ها در مراحل پنج جفت برگی و مرحله گلدهی تحت شرایط مشابه گیاهچه در اطاق کشت در دو آزمایش جداگانه بررسی شدند. پنج گیاه در گلدان های مشابه برای هر تکرار در نظر گرفته شد. در هر دو مرحله مزبور دو جفت برگ آخر گیاه در محل تلاقی دمبرگ و ساقه با ۴۰ میکرولیتر سوسپانسیون 10^6 پیکنیوسپور از همان سوسپانسیون شدند. ۱۴ روز پس از مایه زنی یادداشت برداری انجام گرفت. در مرحله پنج جفت برگی و گلدهی با نمره دهی از ۱ تا ۹ بر اساس درصد دمبرگ نکروز شده و اندازه نکروز روی ساقه ارزیابی شد (Roustae, 1999). ۱ برای ۰-۱۰ درصد، ۲ برای ۲۰-۱۰ درصد، ۳ برای ۳۰-۲۰ درصد، ۴ برای ۴۰-۳۰ درصد (از شماره ۱ تا شماره ۴ بر اساس درصد نکروز سطح دمبرگ)، ۵ برای ۵۰-۴۰ درصد سطح نکروز دمبرگ و شروع نکروز روی ساقه، ۶ قطر نکروز روی ساقه بیشتر از یک سانتیمتر، ۷ نکروز ساقه را احاطه می کند. ۸ اندازه

خالص تهیه شد. تشتک های پتری کشت اسپور در محیط انکوباتور با تناوب روشنایی - تاریکی مشابه شرایطی که در تهیه جدایه گفته شد قرار داده شده و تولید مقدار زیادی پیکنید حاوی پیکنیوسپور نموده که به عنوان مایه اولیه قارچ جهت آلوده سازی مصنوعی استفاده شدند. تک اسپورهای مختلف از نظر خصوصیات فنوتیپیک و اسپورزایی و قدرت تهاجم با یکدیگر متفاوتند (Roustae et al., 2000a). در این طرح از سوش MP6 که پس از خالص سازی، تست اگرسویته با روش روستایی و همکاران (Roustae et al., 2000a) روی آن صورت گرفت و یک سوش اگرسو می باشد استفاده شد.

روش آلوده سازی مصنوعی (Roustae, 1999) در این طرح مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور از پتری های حاوی تک اسپور روی محیط PDA جدایه ای تهیه و در شرایط انکوباتور جهت تولید پیکنید قرار داده شدند. بعد از حدود ۱۰ روز پیکنید های بالغ و آماده آلوده سازی مصنوعی به وجود آمدند. یک سوسپانسیون اسپور با غلظت 10^6 پیکنیوسپور در میلیلیتر (حاوی ۰/۲۵ درصد ژلاتین) که بهترین غلظت جهت جوانه زنی می باشد (Roustae et al., 2000b) تهیه شده و به وسیله میکروپیپت ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون روی گیاهچه دوازده روزه یعنی اولین جفت برگ توسط ساقه یافت می شود. مراحل ۱-۲ (Lancashire et al., 1991) مزبور قرار داده شد. محل اتصال پتیول کوتیلدون به هیپوکوتیل به شکل ناودانی بوده و قطره سوسپانسیون به خوبی در آن جا قرار می گیرد. روی گیاه شاهد یک قطره آب مقطر استریل قرار داده شد. در ۷۲ ساعت اولیه پس از آلوده سازی مصنوعی گلدان ها به وسیله ورقه های شفاف پلی اتیلن جهت ایجاد شرایط مناسب رطوبتی برای توسعه بیمارگر پوشانیده شدند. آزمایش در اطاق کشت طبق شرایطی که قبلاً گفته شد انجام پذیرفت، ده روز بعد از آلوده سازی دو کوتیلدون هر گیاه بررسی و میانگین نمره

استفاده شد. تنوع ژنتیکی برای مقاومت به ساق سیاه آفتاب گردان ناشی از قارچ *P. macdonaldii* قبلاً در مزرعه توسط پرس و همکاران (Peres et al., 1994) گزارش شده است. روستایی و همکاران (Roustaee et al., 2000c) نیز ۲۴ ژنوتیپ آفتاب گردان را طی یک برنامه اصلاحی شامل شش لاین نر عقیم، شش لاین maintainer و شش لاین restorer و شش هیبرید نسل F1 با استفاده از روش (Roustaee, 1999) ارزیابی و نشان دادند که بین ژنوتیپ های مختلف از نظر مقاومت نسبی به این بیماری تنوع وجود دارد. نامبرده یک همبستگی مثبت و معنی دار بین واکنش ژنوتیپ ها در مرحله گیاهچه و مراحل بلوغ شامل پنج برگگی و گلدهی به دست آورده است (Roustaee, 1999). نتایج حاصله از این آزمایش نیز مؤید نتایج قبلی مبنی بر وجود تنوع ژنتیکی بین ارقام آفتاب گردان در مقابل

نکروز روی ساقه بیشتر از دو سانتیمتر و ۹ نکروز بین دو دمبرگ متوالی توسعه می یابد و به هم متصل می شوند.

در هر سه مرحله رشدی گیاه (گیاهچه، پنج جفت برگگی و گلدهی) طرح آزمایش به صورت بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار بود و تجزیه واریانس انجام و سپس مقایسه میانگین ها از طریق LSD انجام شد.

روش های مختلف مایه زنی به وسیله پیکنیوسپور روی دمبرگ ها در کلزا (Brunin and Lacost, 1970; Newman and Bailey, 1987) و در خانواده کراسیفره (Williams and Delwich, 1979) معرفی و جهت ارزیابی و غربال ارقام به خوبی مورد استفاده قرار گرفته اند. روش مشابهی برای غربال ژنوتیپ های آفتاب گردان در مقابل قارچ *P. macdonaldii* نیز صورت گرفته است (Roustaee, 1999)، که در بررسی اخیر از آن با موفقیت

جدول ۱- مقاومت ارقام آفتاب گردان به بیماری ساق سیاه در مرحله گیاهچه
Table 1. Resistance of sunflower cultivars to black stem disease at the seeding stage

ارقام Cultivars	Means (Blocks)			میانگین ها Means
	1	2	3	
Andora	8.8	9	8.3	8.70A*
HA89	9	8	9	8.67A
Asturia	8.8	9	8	8.6A
Azargol	9	8	8.2	8.40AB
Progress	7.8	8.8	8.3	8.30AB
Santiago	6.5	8.5	8.7	7.90B
DK3790	6	5	5.8	5.60C
Armavireski	5.5	5.6	4.8	5.30C
Argos	4.2	4.9	4.1	4.40D
DK3825	3.6	4.5	3.9	4.00D

* میانگین هایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند در سطح ۵٪ با استفاده از تست LSD معنی دار هستند.

* Means having non similar letters are significantly different (LSD%)

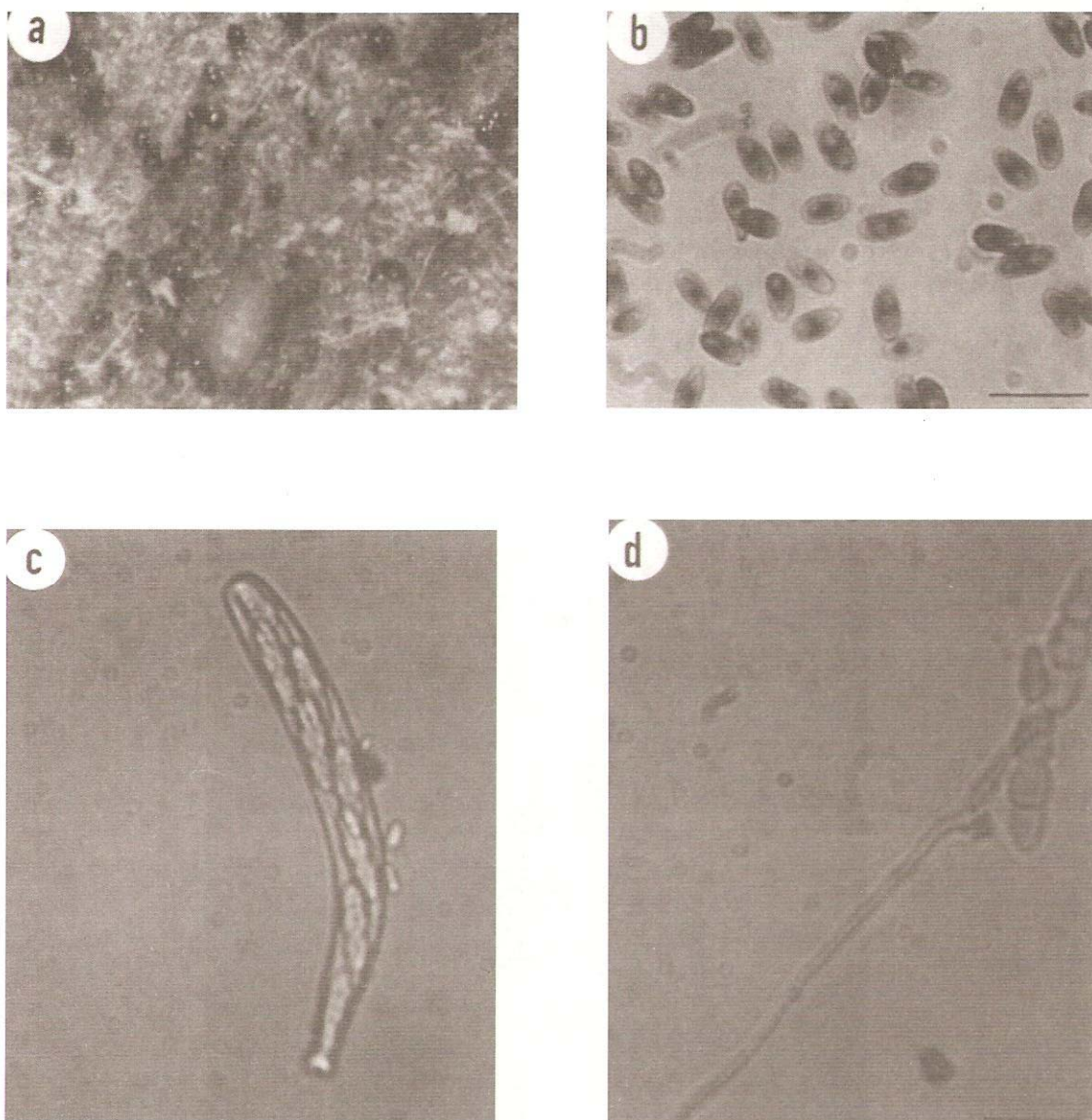
جدول ۲- مقاومت ارقام آفتاب گردان به بیماری ساق سیاه در مراحل پنج جفت برگگی و گلدهی

Table 2. Resistance of sunflower cultivars to black stem disease at the fifth pair leaves and flowering stages

ارقام Cultivars	مرحله پنج جفت برگگی Fifth pair leaves			میانگین ها Means	مرحله گلدهی Flowering			میانگین ها Means
	1	2	3		1	2	3	
	Andora	7.5	7.2		9	7.9A*	5.3	
HA89	9	7.5	6.6	7.7A	7.8	6.2	5.4	6.47A*
Argos	3.7	3	4	3.57B	2.8	3.2	2.41	2.81B
DK3825	3.1	2.4	2.34	2.61B	3	2.4	1.5	2.3B

* میانگین هایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند در سطح ۵٪ با استفاده از تست LSD معنی دار هستند.

* Means having non similar letters are significantly different (LSD%).

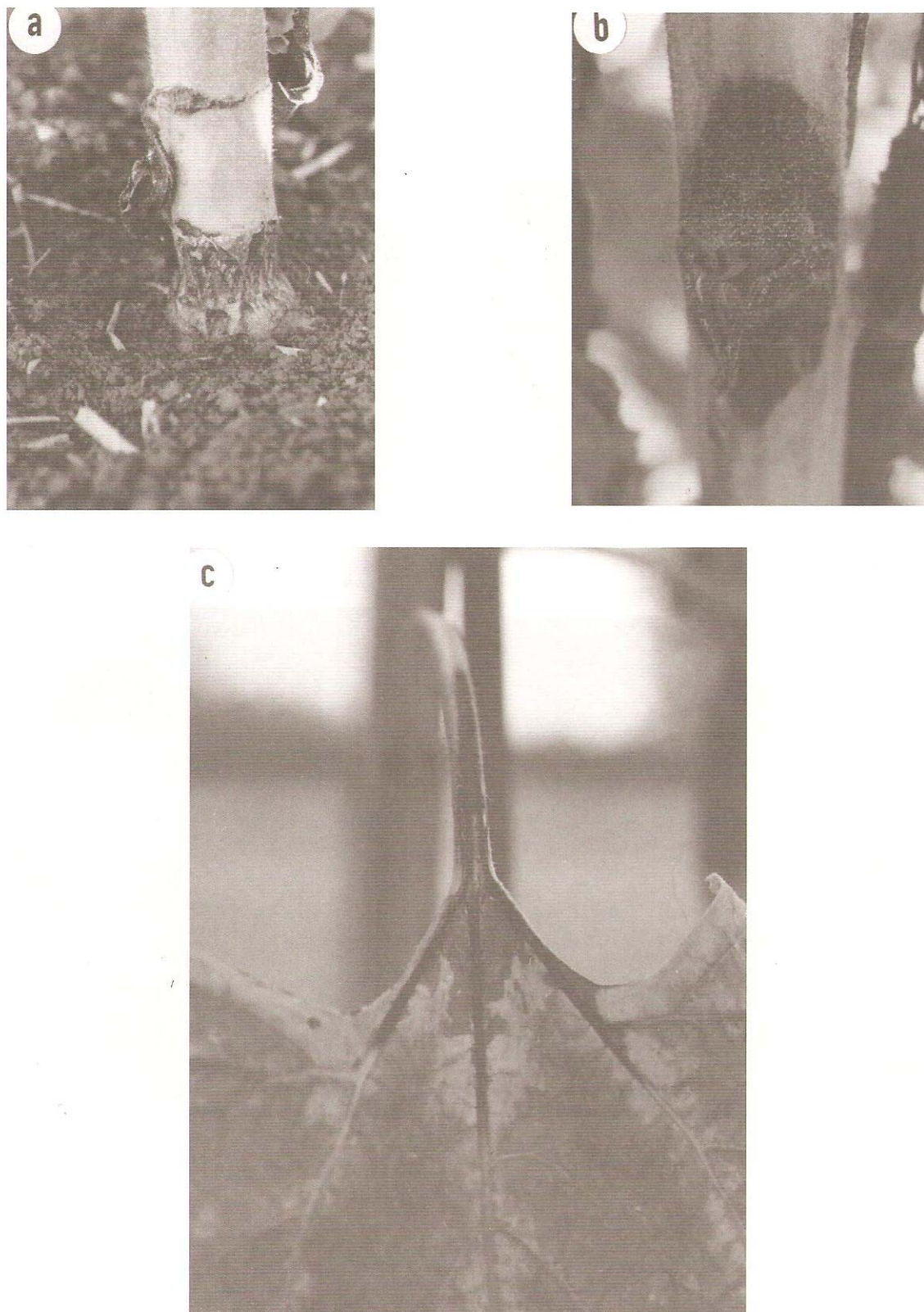


شکل ۱- اندام های غیر جنسی (a و b) و جنسی (c و d)

Leptosphaeria lindquistii / *Phoma macdonaldii*

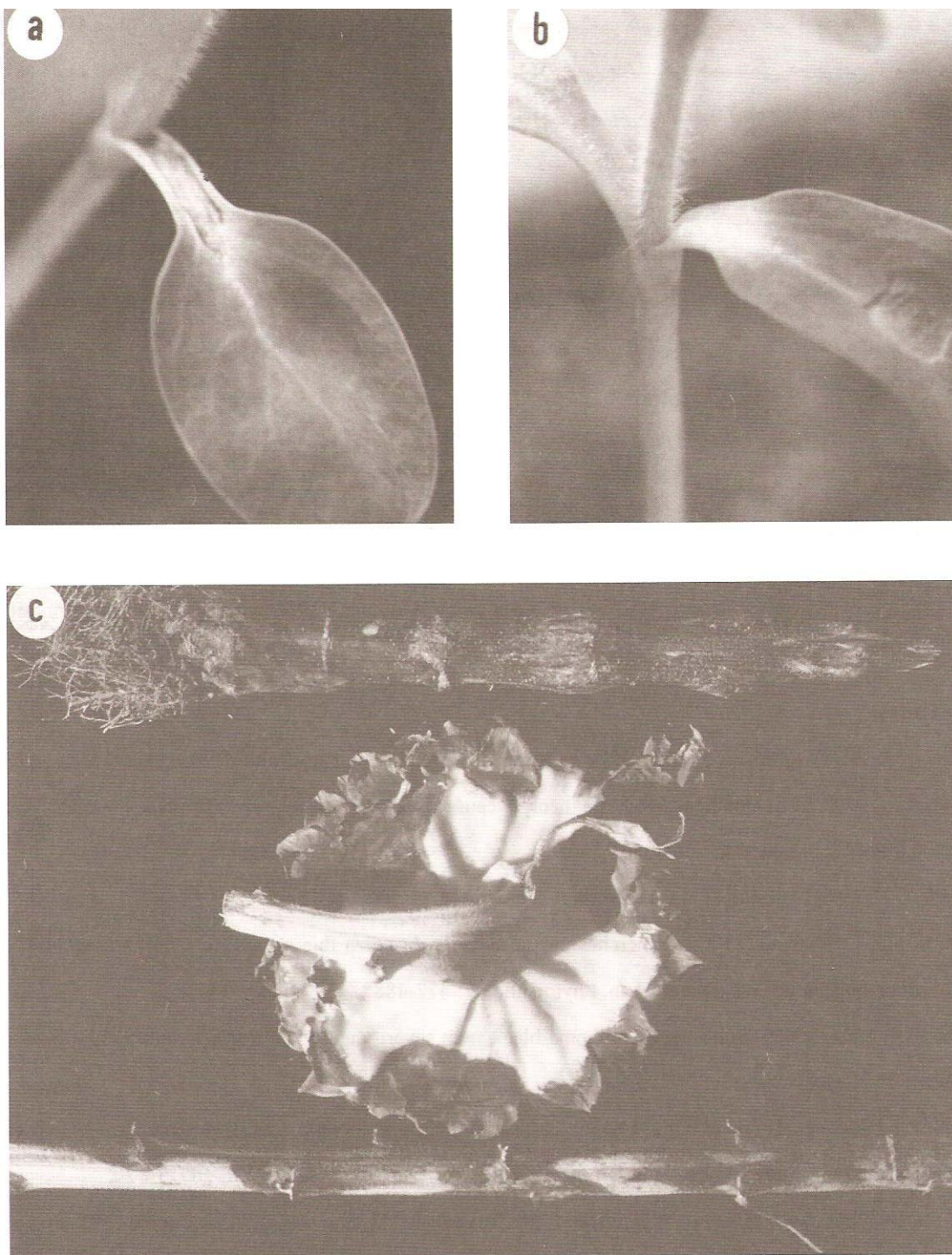
a × 20 = پیکنید، b = پیکنیدیوسپور، c و d = به ترتیب آسک و آسکوسپور (بار = 10 میکرومتر)

Fig. 1. Pycnidium (a×20), Pycniospores and Ascospores b, c & d respectively, (scale bar= 10 μm)



شکل ۲- علائم *Leptosphaeria lindquistii* / *Phoma macdonaldii* روی طوقه (a×1)، شاخه (b×1) و برگ (c×1) آفتاب گردان

Fig. 2. Symptoms of *Phoma macdonaldii* on the crown (a×1), stem (b×1) and leaf (c×1) of sunflower



شکل ۳- علائم *Leptosphaeria lindquistii* / *Phoma macdonaldii* روی کوتیلدون و پتیول آن (a & b×1) روی ساقه و پشت طبق (c×1)

Fig. 3. Symptoms of *Phoma macdonaldii* on the cotyledon (a & b×1) and the stem and the back of the flower head (c×0.5)

بین مرحله گیاهیچه و مرحله پنچ جفت برگی و گلدهی به ترتیب ۰/۹۹۶ و ۰/۹۹۳ بود. این همبستگی بین مرحله پنچ جفت برگی و گلدهی نیز وجود داشت و معادل ۰/۹۴۴ می باشد. این همبستگی در برخی از بیماری ها از جمله پوسیدگی سفید (*Sclerotinia sclerotiorum*) در آفتاب گردان وجود نداشته و مقاومت گیاه در مراحل مختلف رشدی به این قارچ متفاوت گزارش شده است (Tourvieille et Vear, 1984; Castano and Tourvieille, 1989). این مشخصه سبب مشکل شدن انتخاب ارقام خواهد شد که البته در مورد *P. macdonaldii* بالعکس وجود این همبستگی معنی دار در شرایط آزمایشگاهی این اشکال را رفع می کند. لازم است در آینده این آزمایش ها با ارقام بیشتری در شرایط آزمایشگاهی و به دنبال آن به ویژه در شرایط مزرعه انجام شوند تا نتایج قابل تعمیم و نتیجه گیری کلی باشد.

P. macdonaldii بود (جدول ۱). به طوری که ارقام از نظر میزان حساسیت و مقاومت در مرحله گیاهیچه بین دامنه ۴ تا ۸/۷۰ قرار گرفتند و اختلاف معنی داری در جواب به آلوده سازی در شرایط مصنوعی بین ارقام وجود داشت (در سطح ۱٪) به طوری که رقم آندورا با داشتن نمره ۸/۷۰ از همه ارقام حساس تر و در کلاس A (از نظر میزان حساسیت به این بیماری) قرار گرفت و در مقابل آن رقم DK 3825 دارای نمره میانگین چهار و از نظر میزان مقاومت در حد متوسط می باشد و به عنوان یک رقم دارای مقاومت نسبی (Partial resistance) در این آزمایش معرفی می شود. لازم به ذکر است که این طبقه بندی با طبقه بندی ارقام در مراحل پنچ جفت برگی و گلدهی مطابقت داشته و وجود همبستگی معنی دار و مثبت بین آن ها نشان دهنده واکنش یکسان گیاه در مراحل مختلف رشدی در مقابل این بیماری در شرایط آزمایشگاهی کنترل شده می باشد (جدول ۲). همبستگی

References

- Acimovic, M. 1984. Sunflower diseases in Europe, the United States and Australia, 1981-1983. *Helia* 7: 45-54.
- Barrault, G. 1989. L' helminthosporiose de l' orge causée par *Drechslera teres*. Toulouse, France: Institute National Polytechnique, Thèse d' Etat, 250p.
- Boerema, G.H. 1970. Additional notes on *Phoma herbarum*. *Persoonia* 6: 15-48.
- Brunin B. and L. Lacoste. 1970. Recherches sur la maladie du colza due a *Leptosphaeria maculans* (desm.), pouvoir pathogène des ascospores. *Ann. Phytopathol.* 2: 477-488.
- Carson, M.L. 1991. Relationship between phoma black stem severity and yield losses in hybrid sunflower. *Plant Disease* 75: 1150-1153.
- Castano, F.F. Vear and D. Tourvieille. 1989. L' utilisation de plusieurs tests simultanés dans la sélection pour la résistance du tournesol vis-à-vis de *Sclerotinia sclerotiorum*. *Inf. Tech. CETIOM*, 107: 14-20.
- Frezzi, M.J. 1968. *Leptosphaeria lindquistii*, forma sexual de *Phoma oleracea* var. *helianthituberosi* Sacc., hongo causal de la "mancha negra del tallo" del girasol (*Helianthus annuus* L.), en Argentina. *Patologia Vegetal* 5: 73-80.
- Hua, Z. and G. Ma. 1996. A review of sunflower disease research in China. *Proceedings of The Fourteenth International Sunflower Conference*. Beijing, China 2: 254-759.
- Lancashire, P. D.H. Bleiholder, P., Langelüddecke, R. Statuss, T. Van Den Boom, E. Weber, und A. Witzemberger. 1991. An uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Annals Appli. Biol.*

119: 561-601.

- Madjidieh-Ghassemi, S. 1988. Studies on some important fungal diseases of sunflower in Iran. Proceeding of the Twelfth International Sunflower Conference. Novi Sad, Yugoslavi 2: 22-23.
- Maric, A. D. Camprag, and S. Masirevic. 1988. Sunflower black stem (in serbo-Croatian), Nolit, Beograd pp 37-45.
- Newman, P. L. and D. J. Bailey. 1987. Screening for resistance to canker (*Leptosphaeria maculans*) in winter oilseed rape (*Brassica napus* spp. Oleifera). Plant Pathol. 36: 346-345.
- Penaud, A. 1996. Phoma du tournesol: recherche des époques de contamination et mise au point de la protection fongicide. Proceedings of the Fourteenth International Sunflower Conference. Beijing, China 2: 694-699.
- Peres, A. A.M. Allard, J. Deverchere, and A. Penaud. 1994. Phoma du tournesol: Etude de la protection fongicide au champ. In: 4^{eme} conference internationale sur les maladies des plantes. Bordeaux pp. 179-1185.
- Roustae, A. 1999. La maladie des teches noires du tournesol causée par *Phoma macdonaldii* Boerema L. Variabilité et mode d' infection de l'agent pathogène-Etude génétique de la résistance du tournesol. Toulouse, France: Institute National Polytechnique, These. Pp132.
- Roustae, A. G. Dechamp-Guillaume, B. Gelie, C. Savy, R. Dargent, and G. Barrault. 2000a. Ultrastructural studies of the mode of penetration by *phoma macdonaldii* in sunflower seedlings. Phytopathol. 8: 915-920.
- Roustae, A. S. Costes, G. Dechamp-Guillaume, and G. Barrault. 2000b. Phenotypic variability of *Leptosphaeria linguistii* (anamorph: *Phoma macdonaldii*), a fungal pathogen of sunflower. Plant Pathol, 49: 227-234.
- Roustae, A., G. Barrault, G. Dechamp-Guillaume, P. Lesigne, and A. Sarrafi. 2000c. Inheritance of partial resistance to black stem (*Phoma macdonaldii*) in sunflower. Plant Pathology. 49: 369-401.
- Siddique-Mirza, M. A. R. Masood, and M. Ayub, 1988. Sunflower diseases in Pakistan in the period 1980 to 1987. Proceedings of the Twelfth International Sunflower Conference. Novi Sad, Yugoslavi 2: pp25.
- Tourvieille, D. et F. Vear. 1984. La sélection de tournesol pour une meilleure résistance au *Sclerotinia sclerotiorum*. Inf. Tech. CETIOM, 88: 3-23.
- Williams, P. H. and P.A. Delwiche. 1979. Screening for resistance to blackleg of crucifers in the seedling stage. In: Proceedings of Eucarpia, 1979. Conference, Wageningen, The Netherlands pp. 164-170.

Assessment of resistance of some sunflower cultivars to black stem disease (*Phoma macdonaldii*)

A. Roustai¹

ABSTRACT

Black stem disease caused by *Phoma macdonaldii* is one of the most important diseases of sunflower. Development of resistant cultivars is one of the useful approaches to control this disease. For this purpose, reaction of 10 sunflower cultivars to the disease was studied in controlled environmental conditions in growth chamber using a randomized complete block design with 3 replications, (each replication consisted of 10 seedlings). Twelve days-old seedlings were inoculated with pycniospore suspension of *Phoma macdonaldii* (10^6 pycniospore/ml). Ten days after inoculation, the two cotyledon petioles of each seedling were scored on a 1 to 9 rating scale for the percentage of necrosis on petiole area. The most tolerant cultivars were DK3825 and Argos (scored 4 and 4.4 respectively) and the most susceptible cultivar was Andora (scored 8.70). For comparison of the resistance of cultivars at the seedling and adult plant stages, two other experiments were carried out on four cultivars (resistant and susceptible) at the fifth pair leaves and flowering stages under the same conditions. In both growth stages, the classification of cultivars at the seedling stage was confirmed. Positive and significant correlations between the reaction of cultivars at the fifth pair leaves ($r = 0.97$) and flowering stage ($r = 0.99$) were observed.

Key words: Sunflowers, Black stem disease, Resistance.

1- Assist. Prof., Univ. of Tehran, Iran.