

Nota científica

COMPUESTOS DERIVADOS DE AJO COMO AGENTES INDUCTORES DE BROTACIÓN EN CULTIVO ORGÁNICO DE UVA DE MESA

Compounds derived from garlic as bud induction agents in organic farming of table grape

Irasema Vargas-Arispuro^{1*}, Consuelo Corrales-Maldonado¹ y Miguel Ángel Martínez-Téllez¹

ABSTRACT

Viticulture is one of the most important economic activities in the Northwest of Mexico. A major obstacle for the economic production is the insufficient period of chilling temperatures. This problem leads to poor budbreak, which results in reduced yields. This problem is aggravated when plants are cultivated using the organic farming system, mostly because there are not organically approved restbreaking agents. In this work were obtained different products derived from garlic (*Allium sativum* L.) that were evaluated as budbreak stimulating agents of table grape (*Vitis vinifera* L.) cvs. Flame Seedless and Perlette. The isolated compounds were chemically identified and include allicin, diallyl disulfide, diallyl trisulfide, 3-vinyl-[4H]-1,2-dithiin and 2-vinyl-[3H]-1,3-dithiin, S-methyl cysteine sulfoxide, dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide and dimethyl thiosulfonate. Cutting with six buds were used to evaluate the compounds. After compounds were applied, the cuttings were transferred to a growing chamber at 24 °C. All evaluated compounds promoted budbreak in the cuttings of Flame Seedless and Perlette. The volatile compounds from S-methyl cysteine sulfoxide promoted 100% of budbreak of both cultivars. The compounds from garlic that stimulated budbreak in grapevines in this work include sulphur in their molecule; therefore we propose that sulphur could play a key role on breaking bud dormancy of grape cultivars evaluated in this study.

Key words: *Vitis vinifera*, Flame Seedless, Perlette, budbreak, allicin, S-methyl cysteine sulfoxide, *Allium sativum*.

RESUMEN

La viticultura es una de las principales actividades económicas en el Noroeste de México. Entre los problemas que enfrenta esta actividad está el período de frío insuficiente, lo que lleva a una pobre brotación y consecuentemente una menor producción. Este problema se agrava cuando se cultivan plantas por el método orgánico, ya que no existen agentes inductores de brotación aprobados para uso orgánico. En este trabajo se aislaron diferentes compuestos derivados de ajo (*Allium sativum* L.) que se evaluaron para medir su efecto en la inducción de brotación de yemas de vid (*Vitis vinifera* L.) de los cultivares Flame Seedless y Perlette. Los compuestos aislados de ajo e identificados químicamente fueron: alicina, dialil disulfuro, dialil trisulfuro, 3-vinil-(4H)-1,2-ditiin y 2-vinil-(3H)-1,3-ditiin, S-metilcisteína sulfóxido, dimetil disulfuro, dimetil trisulfuro y dimetil tiosulfonato. Se utilizaron estacas de seis yemas para la evaluación de los compuestos; después de la aplicación las estacas se desarrollaron en cámara de crecimiento a 24 °C. Todos los compuestos evaluados promovieron la brotación de las yemas de ambos cultivares. Los compuestos volátiles de S-metilcisteína sulfóxido indujeron 100% de brotación. Los compuestos derivados de ajo que indujeron la brotación en este trabajo contienen azufre en su molécula, por lo que se deduce que el azufre puede tener un importante papel en el rompimiento de la dormancia de las yemas de vid de los cultivares evaluados en este estudio.

¹ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carr. a la Victoria km 0,6. 83000 Hermosillo, México. E-mail: iris@cascabel.ciad.mx * Autor para correspondencia.

Recibido: 21 de marzo de 2007.

Aceptado: 20 de julio de 2007.

Palabras clave: *Vitis vinifera*, Flame Seedless, Perlette, brotación, alicina, S-metilcisteína sulfóxido, *Allium sativum*.

INTRODUCCIÓN

El mercado mundial de productos hortofrutícolas orgánicos ha tenido un rápido crecimiento en los últimos años, siendo los países con mayor demanda los integrantes de la Comunidad Económica Europea, Estados Unidos, Canadá y Japón (Dimitri y Oberholtzer, 2006). Se calcula que en los próximos años la demanda de productos orgánicos se incrementará en un 15-20% por año en estos países (Kortbech-Olesen, 2006), creando una oportunidad que motiva al agricultor a establecer métodos orgánicos para el cultivo de frutas y hortalizas destinadas a estos mercados, obteniendo el beneficio del sobreprecio.

Para algunas regiones agrícolas, un factor limitante de la agricultura orgánica es el reducido número de insumos autorizados, lo que pone en riesgo la rentabilidad de esta industria. Específicamente, el cultivo de la vid (*Vitis vinifera* L.) destinado a la producción de uva de mesa, establecido en regiones agrícolas con climas templados, en los cuales los otoños e inviernos cálidos ocasionan brotaciones desuniformes y/o improductivas, debido a la insuficiente acumulación de frío, reduciendo la producción hasta en un 50% cuando no se aplican químicos que induzcan la brotación (Or *et al.*, 1999).

En la agricultura convencional, los efectos causados por requerimientos de frío insatisfechos en plantas de vid son aminorados con la aplicación de cianamida de hidrógeno y/o cianamida de calcio, agentes químicos efectivos para inducir la brotación de varias especies de plantas caducifolias (Lavee and May, 1997). Sin embargo, estos agentes inductores de brotación no están autorizados para su uso en cultivos orgánicos. Entre los productos permitidos en agricultura orgánica se encuentra el azufre y sus derivados, así como extractos de ajo (*Allium sativum* L.) (NCFAP, 2001; OMRI, 2006). Los compuestos obtenidos de ajo en su mayoría son derivados azufrados (Jirovetz *et al.*, 2001), además, existen reportes de que la pasta preparada de ajo fresco indujo la brotación de manera similar a cianamida de calcio, cuando se aplicó a las yemas de vid con insuficiencia de frío (Kubota *et al.*, 2000).

En el presente experimento se evaluaron compuestos volátiles y no-volátiles aislados a partir de ajo fresco para inducir la brotación de yemas en estacas de vid, de las variedades Flame Seedless y Perlette, cultivadas en el Noroeste de México, una región con inviernos cálidos donde las prácticas para la obtención de cosechas tempranas son altamente deseables.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Las estacas se colectaron de plantas adultas de vid (*Vitis vinifera* L.), cvs. Perlette y Flame Seedless en dormancia, con 140 h-frío acumuladas de manera natural. El material vegetal provenía de plantas de un viñedo comercial de la zona agrícola de Pesquira, Sonora (29°22'N), México. Los experimentos se realizaron en el laboratorio de Fisiología Vegetal y Ecología Química, del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Hermosillo, México. Para la evaluación del efecto de los derivados de ajo se utilizaron estacas con seis yemas.

Obtención del extracto de ajo. Se obtuvo a partir de 100 g de dientes de ajo fresco que se trituraron en mortero de porcelana (Kubota y Miyamuki, 1992). La pasta resultante se denominó extracto de ajo.

Obtención de alicina. El compuesto alicina se obtuvo a partir de 5 g de dientes de ajo fresco, homogeneizados en 30 mL de agua destilada durante 5 min a 4 °C. El homogeneizado se incubó a 30 °C por 20 min. Terminado el tiempo de incubación se centrifugó durante 20 min a 15.000 g a 4 °C. Al sobrenadante se le agregaron 1,5 mL de metanol, repitiendo la centrifugación por 5 min a 4 °C. La alicina se aisló del sobrenadante utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a un

detector de arreglo de diodos (Hewlett-Packard Co., HP-1100, Wilmington, Delaware, USA) y un detector de índice de refracción (Hewlett-Packard, HP 1047A, Tokyo, Japón). El equipo se controló con el programa ChemStation (ChemStation software for LC, GC, Hewlett-Packard, revisión A.06.0X. 76337, Waldbronn, Germany). La columna utilizada fue una Hypersil ODS (250 x 4,6 mm, 5 μ , Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA). Las condiciones de detección de alicina en el HPLC fueron una fase móvil de metanol (60%):agua (ácido fórmico 0,1%), a flujo de 0,8 mL min⁻¹, detectando la muestra a una longitud de onda de 254 nm. La identificación química del producto se basó en la conjunción de datos como el tiempo de retención en HPLC que fue de 6,5 min, la fragmentación de masas, el espectro ultravioleta que coincidió con las características de un estándar comercial (Chromadot, Sigma Co., Palo Alto, California, USA) preparado a 10 mg mL⁻¹ de acuerdo a lo descrito por Rybak *et al.*, 2004)

Obtención de volátiles de alicina. Los volátiles se generaron a partir de alicina obtenida como se describió en el párrafo anterior. En un vial herméticamente cerrado se dejaron reposar 5 mL de alicina durante 72 h a temperatura ambiente. Los volátiles de cabeza generados se recuperaron e identificaron en un cromatógrafo de gases de inyección directa (Star 3400 CX, Varian, Palo Alto, California, USA), acoplado a un detector de masas de impacto de electrones (Saturn III, Varian, Palo Alto, California, USA). La columna utilizada fue DB-1 (Agilent Technologies) de 30 m x 0,25 mm de diámetro interno. El programa de temperatura fue de 30 a 100 °C con incrementos de 2 °C min⁻¹, la línea de transferencia y la trampa de iones se programaron a 100 °C.

Obtención de S-metilcisteína sulfóxido (SMCSO). Se obtuvo a partir de 200 g de dientes de ajo frescos macerados con metanol al 95% durante tres días a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se homogeneizó y filtró sobre papel Whatman # 4. El filtrado se concentró en evaporador rotatorio. El extracto obtenido (16 g) se separó en columna cromatográfica rellena con una resina (AG-50WX2), eluyendo con hidróxido de amonio 1 N la fracción que contenía el SMCSO (Corrales-Maldonado, 2004). La fracción se concentró y el SMCSO se purificó e identificó empleando el equipo HPLC descrito para la obtención de alicina. La columna que se utilizó fue Lichrosphere 5 RP-18 (25 X 10, 5 μ) (Phenomenex, Torrance, California, USA). Se trabajó con un método isocrático con fase móvil con 16% de acetonitrilo en buffer de fosfato de potasio 50 mM (pH 7.0). La detección se realizó a 337 nm de acuerdo a lo propuesto por Marks (1992).

Obtención de volátiles de S-metilcisteína sulfóxido. Los volátiles se generaron a partir de SMCSO obtenido como se describió en el párrafo anterior. El SMCSO se degradó térmicamente en condiciones de autoclave de 121 °C durante 15 min. Los volátiles de cabeza generados se recuperaron e identificaron de la misma manera que se describe en el apartado de volátiles de alicina. La columna utilizada fue DB-1 (30 m x 0,25 mm, Agilent Technologies). La temperatura del horno se programó de 40 hasta 200 °C con incrementos de 2,4 °C min⁻¹. La temperatura del puerto de inyección y del detector fue de 250 y 280 °C, respectivamente. La fuente de iones fue de 70 eV y se trabajó en un rango de masas de 40 a 200 Da (Kyung *et al.*, 1997).

Tratamientos. Los productos derivados de ajo se aplicaron a 10 estacas por tratamiento (seis yemas por estaca) de los cultivares Perlette y Flame Seedless. Los tratamientos se aplicaron directamente sobre las yemas con ayuda de un hisopo de algodón impregnado con los diferentes productos, que fueron: extracto de ajo, alicina, volátiles de alicina, SMCSO, volátiles de SMCSO, y cianamida de hidrógeno al 4%, que se usó como testigo positivo; como testigo absoluto se utilizaron estacas sin ninguna aplicación. Después de la aplicación de los tratamientos, las estacas se colocaron en recipientes con el corte basal sumergido en agua. Los recipientes se transfirieron a cámara de crecimiento con temperatura controlada a 24 \pm 2 °C, y un sistema de fotoperíodo de 16:8 h luz:h de oscuridad. Las estacas permanecieron en la cámara hasta el final del experimento. Se consideraron yemas brotadas aquellas en las que apareció el brote verde. Se realizó un registro diario de las yemas para obtener el porcentaje de brotación por día durante un período de 35 días.

Para analizar el efecto de los compuestos en la brotación se realizó un análisis de varianza con mediciones repetidas a los datos de yemas brotadas. Para esto se utilizó el paquete estadístico Number Cruncher Statistical System (NCSS) (Hintze, 2001). Las medias se compararon por la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de compuestos derivados de ajo

Se extrajeron dos compuestos no volátiles a partir de ajo fresco, el primero fue identificado como alicina, que es un compuesto altamente inestable a temperatura ambiente. Aprovechando esta inestabilidad, se indujo la degradación térmica de la alicina obtenida para formar una mezcla de compuestos volátiles. Algunos de los componentes más abundantes en la mezcla de volátiles fueron el dialil disulfuro, el dialil trisulfuro, 3-vinil-[4H]-1,2-ditin y el 2-vinil-[3H]-1,3-ditin (**Figura 1**). Estos compuestos se han informado previamente como derivados de ajo (Kubota *et al.*, 1999; 2000).

Durenkamp and De Kok (2004) hicieron una revisión de como los compuestos azufrados están implicados en múltiples actividades biológicas de las plantas. Tanto la alicina como los compuestos volátiles fueron evaluados en la inducción de la brotación de yemas de vid.

El segundo compuesto no-volátil obtenido en este trabajo se identificó como S-metilcisteína sulfóxido (SMCSO), coincidiendo el patrón de fragmentación de masas con el indicado en la literatura para este compuesto que mostró el ión molecular de 151 Da (Kyung *et al.*, 1997). En la mezcla de volátiles generados de SMCSO se identificaron tres compuestos de mayor concentración: dimetil disulfuro, dimetil trisulfuro y dimetil tiosulfonato; su cromatograma de gases se muestra en la **Figura 2**. Estos compuestos fueron reportados por Kubec *et al.* (1998) como precursores de azufre (S-) en hortalizas de los géneros *Brassica* y *Allium*.

Efecto de compuestos derivados de ajo en la inducción de brotación de yemas de vid

El efecto de los derivados de ajo se midió cuantificando el porcentaje de brotación después de aplicar los diferentes productos sobre las yemas; se usó cianamida de hidrógeno al 4% como testigo positivo. Las yemas del cv. Perlette iniciaron la brotación seis días después de la aplicación en todos los tratamientos, adelantando en 3 días la brotación en comparación al testigo (**Figura 3**). El porcentaje de yemas brotadas alcanzó el 100% a los 25 días después de la aplicación con los tratamientos de SMCSO, la mezcla de volátiles de SMCSO y cianamida de hidrógeno. A los 35 días, los tratamientos de volátiles de alicina, extracto de ajo, alicina, y el testigo, acumularon un porcentaje de brotación de 80, 73, 45 y 25%, respectivamente (**Figura 3**). Aún cuando el tratamiento de alicina, presentó una brotación 20% mayor que el testigo, estadísticamente resultaron iguales.

En las yemas del cv. Flame Seedless (**Figura 4**) el inicio de la fecha de brotación se adelantó en todos los tratamientos en relación al testigo. La brotación se presentó entre los 18-20 días después de la aplicación de los tratamientos; el testigo inició la brotación a los 34 días, esto significa que los productos adelantaron la brotación entre 14-16 días en relación al testigo. El tratamiento con volátiles de SMCSO alcanzó el 100% de brotación a los 35 días después de la aplicación, fecha en que el testigo estaba iniciando la brotación. Los tratamientos de extracto de ajo, SMCSO, volátiles de alicina, y cianamida, causaron un porcentaje de brotación entre 62-70%, resultando estadísticamente iguales. El tratamiento de alicina indujo 92% de brotación hacia al final de la evaluación. Para este cultivar el menor porcentaje de brotación se observó en el testigo, con un 23%.

Figura 1. Cromatograma de gases/masas de los compuestos volátiles generados a partir de allicina.

Figure 1. Gas/mass chromatogram of volatile compounds from allicin.

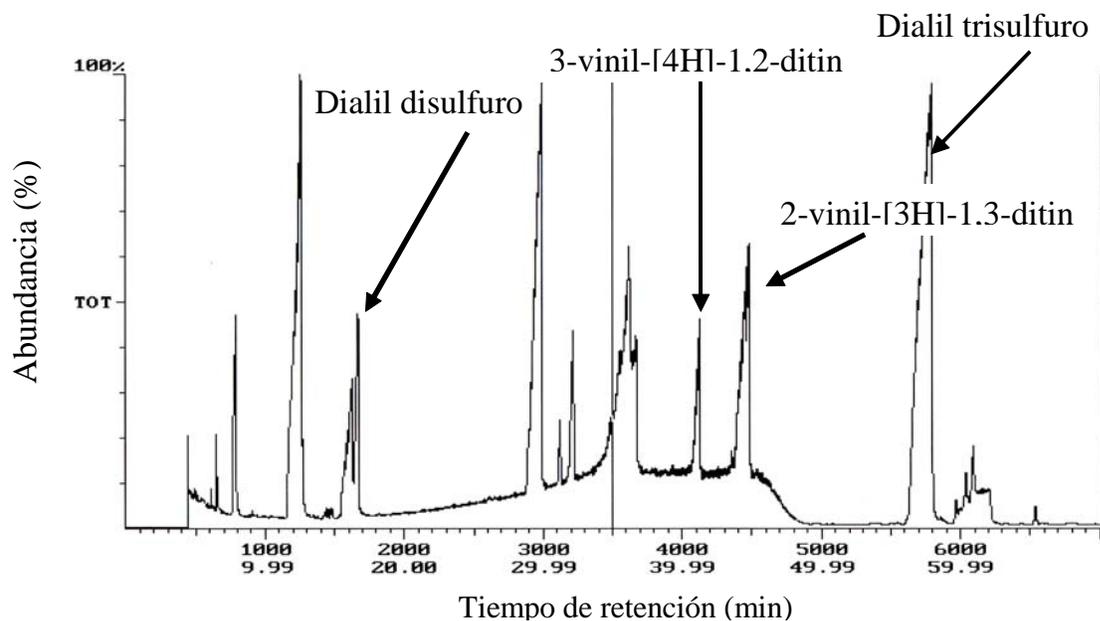


Figura 2. Cromatograma de gases/masas de los compuestos volátiles generados a partir de S-metilcisteína sulfóxido (SMCSO).

Figure 2. Gas/mass chromatogram of volatile compounds from S-methyl cysteine sulfoxide (SMCSO).

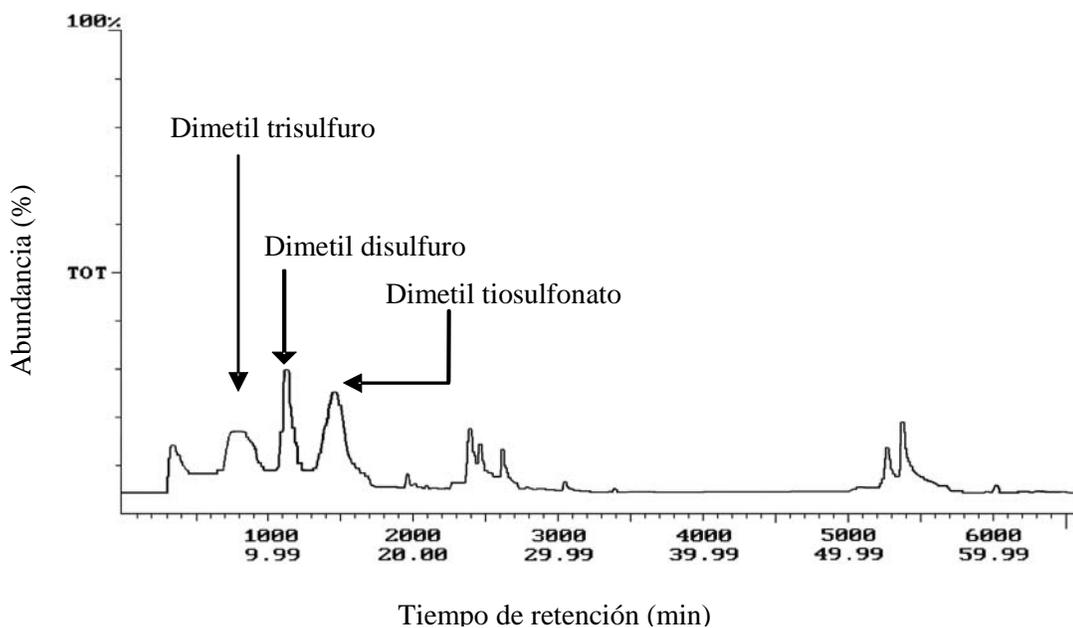


Figura 3. Efecto de la aplicación de derivados de ajo en la brotación de yemas de vid cv. Perlette. Letras diferentes en cada tratamiento son estadísticamente diferentes según prueba de Tukey ($P < 0,05$). Los resultados fueron iguales en experimentos repetidos al menos dos veces.

Figure 3. Effects of application of derivatives of garlic on budbreak of tablegrape cv. Perlette. Different letters on each treatment are significantly different Tukey ($P < 0,05$). The results were similar in experiments repeated at least two times.

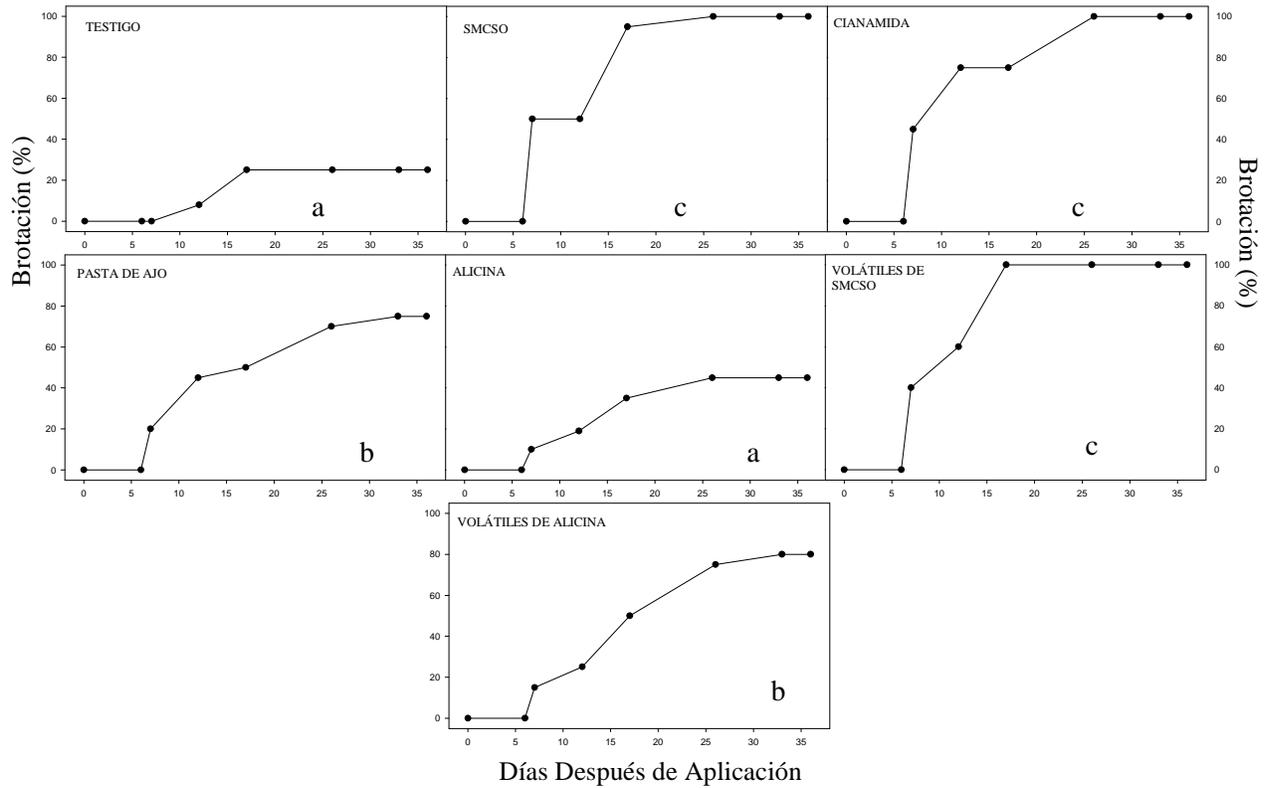
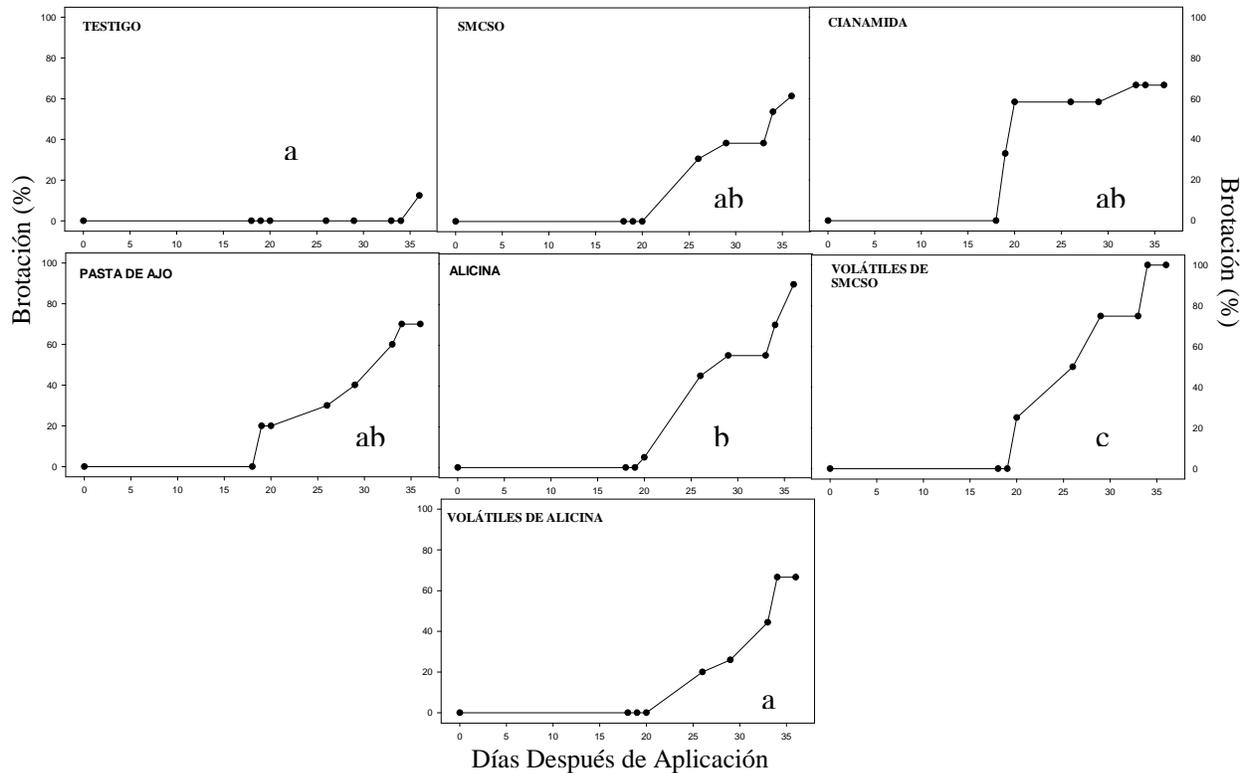


Figura 4. Efecto de la aplicación de derivados de ajo en la brotación de yemas de vid cv. Flame Seedless.

Letras diferentes en cada tratamiento son estadísticamente diferentes según prueba de Tukey ($P < 0,05$). Los resultados fueron iguales en experimentos repetidos al menos dos veces.

Figure 4. Effects of application of derivatives from garlic on budbreak of tablegrape cv. Flame Seedless.

Different letters on each treatment are significantly different Tukey ($P < 0,05$). The results were similar in experiments repeated at least two times.



Las yemas del cv. Perlette presentaron mejor respuesta a la aplicación de los derivados de ajo que las yemas del cv. Flame Seedless; esto puede deberse a que estos cultivares tienen diferentes requerimientos de horas frío para brotación, siendo 150-200 h los requerimientos para el cv. Perlette y 300-350 h para el cv. Flame Seedless, lo que significa que las yemas de ambos cultivares se encontraban en diferente estado del ciclo de dormancia cuando se aplicaron los tratamientos, favoreciendo al cv. Perlette, ya que cuando las estacas se colectaron en el campo, tenían 140 h frío acumuladas en ambos cultivares, lo que puede explicar que el cv. Perlette iniciara la brotación en menor tiempo que el cv. Flame Seedless.

En los dos cultivares evaluados, los volátiles de SMCSO indujeron 100% de brotación de las yemas. La inducción de la brotación por efecto de los volátiles de SMCSO en vid no ha sido informada anteriormente. Entre estos volátiles se identificó al dimetil disulfuro como uno de los componentes de mayor concentración en la mezcla de volátiles (Figura 2). Kubota *et al.* (2003) reportaron que en la exposición a volátiles obtenidos de hojas de *Allium tuberosum* Rottler ex. Spring y de *Allium chinense* G. Don, el dimetil disulfuro fue uno de los compuestos responsables del rompimiento de dormancia en vid

cv. Kyoho, por lo que se puede inferir que el efecto para inducir la brotación del tratamiento de volátiles de SMCSO puede estar relacionado con la presencia de dimetil disulfuro.

El tratamiento con volátiles de alicina promovió la brotación de manera similar a la cianamida en ambos cultivares, coincidiendo esta respuesta con la observada por Kubota *et al.* (2000) en el cv. Pione, al inducir la brotación con dialil disulfuro y dialil trisulfuro. Estas dos sustancias fueron identificadas en este trabajo entre los volátiles generados por degradación térmica de alicina (**Figura 1**), por lo que el efecto de los volátiles de alicina para inducir la brotación podría atribuirse a la presencia de estos dos compuestos.

Todos los productos derivados de ajo obtenidos y evaluados en este estudio, contienen al menos un átomo de azufre en su molécula. Los compuestos volátiles contienen dos, tres ó más átomos de azufre, mientras que los no-volátiles contienen menos átomos de azufre que los compuestos volátiles. A las sustancias con moléculas de azufre se le ha atribuido el efecto de interrumpir el reposo en diferentes especies de plantas caducifolias (Hartmann *et al.*, 2000). Se ha señalado específicamente a dialil disulfuro como responsable de este efecto (Kubota *et al.*, 2003). Los compuestos volátiles, que tienen dos, tres o más átomos de azufre, presentaron mejor efecto sobre la brotación que los compuestos no-volátiles. El mecanismo por el cual los compuestos azufrados pueden inducir la brotación sigue siendo desconocido, sin embargo hay un progreso sobre la elucidación de rutas implicadas en la regulación del azufre en relación al crecimiento vegetativo de las plantas (Hawksford and De Kok, 2006). En el proceso de asimilación de azufre por la planta, el azufre inorgánico en el ambiente es fijado como cisteína después de un proceso de reducción (Saito, 2000). La cisteína es el material inicial para la producción de glutatión reducido, el cual es responsable de desintoxicar las células mediante la eliminación de radicales libres y especies reactivas que se acumulan durante los diferentes tipos de estrés (Saito, 2004; Zang, 2004). Si las moléculas de azufre de los derivados de ajo pueden ser asimiladas por la planta en la etapa de latencia, pudieran estar favoreciendo la destoxificación de la planta y promoviendo la brotación. Por otro lado, aplicaciones exógenas de glutatión reducido indujeron la brotación cuando se aplicó sobre yemas de vid del cv. Delaware (Tohbe *et al.*, 1998), pudiendo ser un posible mecanismo el incremento de este tripéptido.

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos se puede concluir que los compuestos alicina y SMCSO aislados e identificados en este trabajo, así como las mezclas de volátiles generados por estos dos compuestos, fueron capaces de inducir la brotación en yemas de vid de los cvs. Perlette y Flame Seedless, cuando éstos no completaron los requerimientos de acumulación de horas frío. Todos los tratamientos adelantaron la brotación en relación al testigo, destacando el tratamiento de volátiles de SMCSO, que indujo en 100% la brotación en ambos cultivares, resultando mejor que cianamida de hidrógeno. En este trabajo los compuestos volátiles indujeron un mayor porcentaje de brotación que los compuestos no-volátiles.

En razón de que los agentes botánicos son aceptados en los métodos de cultivo orgánico, los productos derivados de ajo podrían llegar a ser un insumo alternativo para inducir brotación en el cultivo orgánico de uva de mesa en regiones templadas y con inviernos cálidos.

RECONOCIMIENTO

Este proyecto se realizó con el apoyo de la Asociación de Productores de Uva de Mesa del Estado de Sonora, México, y fue financiado por Fundación Produce Sonora, como parte del Proyecto Integral de Vid.

LITERATURA CITADA

- Durenkamp, M. and L.J. De Kok. 2004. Impact of pedospheric and atmospheric sulphur nutrition on sulphur metabolism of *Allium cepa* L. a species with a potential sink capacity for secondary sulphur compounds. *J. Exp. Botany* 55:1821-1830.
- Dimitri, C., and L. Oberholtzer. 2006. EU and U.S. organic markets. Face strong demand under different policies. *Amberwaves. Economic Research Service-USDA* 4:13-19.
- Corrales-Maldonado, C. 2004. Control in vitro de *Phymatotrichopsis omnivora* por compuestos azufrados aislados de plantas del género *Brassica*. p. 19-21. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora, México.
- Hartmann, T., S. Mult, M. Suter, H. Rennenberg, and C. Herschbach. 2000. Leaf age-dependent differences in sulphur assimilation and allocation in poplar (*Populus tremula* x *P. alba*) leaves. *J. Exp. Botany* 51:1077-1088
- Hawkesford, M. and L. de Kok. 2006. Managing sulphur metabolism in plants. *Plant Cell and Envirom.* 29:382-395.
- Hintze, J. 2001. Number cruncher statistical system. Statistical software version 6.0. NCSS, Kaysville, Utah, USA.
- Jirovetz, L., M. Ngassoum, and G. Buchbauer. 2001. Analysis of garlic (*Allium sativum*) aroma compounds using SPME-GC-FID, SPME-GC-MS and olfactometry. *Rec. Res. Devl. Agric. Food Chem.* 5:144-148
- Kortbech-Olesen, R. 2006. The United States market for organic food and beverages. International Trade Center Report. Available at <http://www.intracen.org/mds/sectors/organic> Accessed March 2, 2006.
- Kubec, R., V. Drhová, and J. Velíšek. 1998. Thermal degradation of S-methylcysteine and its sulfoxide-important flavor precursors of *Brassica* and *Allium* vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 46:4334-4340.
- Kubota, N., M.A. Matthews, T. Takahagi, and W.M. Kliwer. 2000. Budbreak with garlic preparations. Effect of garlic preparations and of calcium and hydrogen cyanamides on budbreak of grapevines grown in greenhouses. *Am. J. Enol. Vitic.* 51:409-414.
- Kubota, N., and M. Miyamuki. 1992. Braking bud dormancy in grapevines with garlic paste. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 68:1111-1117.
- Kubota, N., K. Tpriu, Y. Yamane, K. Kawazu, T. Higuchi, and S. Nishimura. 2003. Identification of active substance in Chinese chive and rakkyo plants responsible for breaking bud dormancy in grape cutting. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 72:268-274
- Kubota, N., Y. Yamane, K. Toriu, K. Kawazu, and T. Higuchi. 1999. Identification of active substances in garlic responsible for breaking bud dormancy in grapevines. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 68:1111-1117.
- Kyung, H. K., D.C. Han, and H. P. Fleming. 1997. Antibacterial activity of heated cabbage juice, S-methyl-L-cysteine sulfoxide and methyl methanethiosulfonate. *J. Food Sci.* 62:406-409.

Lavee, S. and P. May. 1997. Dormancy of grapevine buds-facts and speculation. *Austr. J. Grape and Wine Res.* 3:31-46.

Marks, H.S. 1992. S-methylcysteine sulfoxide in Brassica vegetable and formation of methyl methanethiosulfinate from Brussels sprouts. *J. Agri. Food Chem.* 40:2098-2101.

NCFAP. 2001. National Pesticides Use Database. National Center for Food and Agricultural Policy (NCFAP). Available at <http://www.ncfap.org/ncfap/index.html> Accessed March 2, 2006.

OMRI. 2006. Organic products list. Organic Materials Review Institute (OMRI). Available at <http://www.omri.org> Accessed March 10, 2006.

Or, E., G. Nir, and I. Vilozny. 1999. Timing of hydrogen cyanamide application to grapevine buds. *Vitis* 38:1-6.

Rybak, M., E. Calvey, and J.M.Harnley. 2004. Quantitative determination of alicin in garlic: supercritical fluid extraction and standards addition of alicin. *J. Agric.Food. Chem.*52:682-687.

Saito, K. 2000. Regulation of sulfate transport and synthesis of sulfur-containing amino acids. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3:188-195

Saito, K. 2004. Sulfur assimilatory metabolism. The long and smelling read. *Plant Physiol.* 136:2443-2450.

Tohbe, M., R. Mochioka, R. Horiouchi, S. Ogata, T. Shiozaki, and S. Kurooka. 1998. Roles of ACC and glutathione during breaking of dormancy in grapevine buds by high temperature treatment. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 67:897-901.

Zang, M. 2004. A novel family of transporters mediating the transport of glutathione derivatives in plants. *Plant Physiol.* 134:482-491