

Las heridas de endoterapia: influencia del tamaño y el sellado del orificio en diferentes especies leñosas

Ahlam Drissi El-Bouzaïdi¹,
Jesús Tello Lucena¹, Lorenzo
Gómez Camacho¹, Ricardo
Fernández-Escobar²

¹ Fertinyect S.L. Córdoba

² Universidad de Córdoba.
E.T.S.I.A.M. Departamento
Agronomía. Campus Universitario
de Rabanales. Córdoba.

El desconocimiento de una parte de los técnicos responsables del arbolado urbano acerca de lo ocurrido con las heridas realizadas tras una aplicación con endoterapia hace que ésta suponga en ocasiones una preocupación infundada, en detrimento de la implantación de esta técnica. Con objeto de aportar información sobre este tema, en diferentes especies se investigó la velocidad de compartimentación de orificios de inyección con variables como el tamaño del orificio o el sellado con un tapón, tras comparar diámetros de 4, 5 y 6 mm, con este último sellando o sin sellar, con un tapón biodegradable. El estudio revela que los orificios de 4 mm responden más eficientemente, mientras que el tapón genera daños en un 67% de los orificios. Además, el tamaño del orificio no afectó la velocidad de absorción.

Introducción

La endoterapia es una técnica con eficacia ampliamente demostrada frente a gran variedad de plagas y enfermedades en arbolado agrícola y ornamental, como la grafiosis del olmo (Haugen y Stennes, 1999), la *phytophthora* en quercíneas (Romero et al., 2019), la procesionaria del pino (Sousa et al., 2013), o incluso bacterias como el *greening* de los cítricos o Huanglongbing, (HLB, Archer et al., 2022, 2023). Esta técnica se ha ido popularizando debido a su alta eficacia y beneficios ambientales, ya que el tratamiento se aplica de manera individualizada directamente al xilema del árbol, evitando cualquier deriva. Sin embargo, la falta de información sobre los factores que afectan al proceso respuesta a las heridas es aún limitada.

Al contrario que otros seres vivos, que responden a las heridas con mecanismos de cicatrización, la respuesta en árboles se denomina "compartimentación", proceso que está modelizado a través del concepto de CODIT (compartimentación del daño/decaimiento en árboles), desarrollado por Shigo y Marx (1977) y ampliado por Morris et al. (2020). CODIT describe cómo los árboles, al ser organismos altamente compartimentados, tienen la capacidad de limitar y aislar las heridas para mitigar la propagación de los daños, cuya eficacia depende de la especie, o incluso la propia genética y el estado de salud del árbol.

El uso de tapones para sellar los orificios de endoterapia es objeto de controversia, ya que, con el objeto de impedir el acceso a insectos u otros patógenos, se restringe el acceso al oxígeno para así ralentizar los mecanismos de oxidación naturales inherentes a la compartimentación. Recientes estudios apuntan a una influencia negativa de la presencia de un tapón como método de sellado para una respuesta eficiente a la herida (Archer et al., 2023; Hauer et al., 2022; Acimović et al., 2016).

En este contexto, el objetivo principal del presente estudio es evaluar cómo influyen en la velocidad de cierre de la herida y la compartimentación los siguientes factores: 1) el tamaño de la herida (2) el uso de un tapón sellante y (3) la especie tratada. Un objetivo secundario sería el conocer la influencia del tamaño del conector en la velocidad de absorción.

Materiales y métodos

En julio de 2023, cuando los árboles ya habían desarrollado completamente sus hojas, se realizó una única aplicación. Sobre árboles situados en el Parque Científico y Tecnológico de Rabanales, ubicado en las afueras de Córdoba, se estudiaron cuatro especies comunes en el entorno urbano: olmo (*Ulmus pumila*), chopo (*Populus nigra*), plátano de sombra (*Platanus x hispanica*) y naranjo amargo (*Citrus aurantium*), de las que se seleccionaron 10 ejemplares (10 repeticiones), todos ellos con períme-



Figura 1. Escala de cierre de herida 0: cierre 0%, 1: cierre 25%. 2: cierre 50%. 3: cierre 75%. 4: cierre 100%. 5: orificio de 6mm sellado con tapón en plátano de sombra.

Ferite da endoterapia: influenza delle dimensioni sulla chiusura del foro in diverse specie legnose

Ahlam Drissi El-Bouzaïdi¹,
Jesús Tello Lucena¹, Lorenzo
Gómez Camacho¹, Ricardo
Fernández-Escobar²

¹ Fertinyect S.L. Córdoba

² Università di Córdoba.
E.T.S.I.A.M. Dipartimento di
Agronomia. Campus universitario di
Rabanales. Córdoba.

La scarsa conoscenza da parte di alcuni tecnici responsabili degli alberi urbani di ciò che accade alle ferite prodotte dopo un'applicazione di endoterapia porta talvolta a preoccupazioni infondate, a scapito dell'applicazione di questa tecnica. Al fine di fornire informazioni su questo argomento, è stata studiata la velocità di compartimentazione dei fori di iniezione in diverse specie con variabili quali la dimensione del foro o la sigillatura con un tappo, dopo aver confrontato diametri di 4, 5 e 6 mm, con quest'ultimo sigillato o meno, con un tappo biodegradabile. Lo studio rivela che gli orifici di 4 mm rispondono in modo più efficiente, mentre il tappo genera danni nel 67% degli orifici. Inoltre, la dimensione dell'orificio non ha influito sul tasso di assorbimento.

Introduzione

L'endoterapia è una tecnica di efficacia ampiamente dimostrata contro un'ampia varietà di parassiti e malattie degli alberi agricoli e ornamentali, come la grafiosi dell'olmo (Haugen e Stennes, 1999), la *phytophthora* in quercus (Romero et al., 2019), la procesionaria del pino (Sousa et al., 2013), o anche batteri come il rinverimento degli agrumi o l'Huanglongbing (HLB, Archer et al., 2022, 2023). Questa tecnica è diventata sempre più popolare grazie alla sua elevata efficacia e ai vantaggi ambientali, in quanto il trattamento viene applicato singolarmente direttamente nello xilema dell'albero, evitando la deriva. Tuttavia, la mancanza di informazioni sui fattori che influenzano il processo di risposta alla ferita, portano ad una conoscenza limitata.

A differenza di altri esseri viventi, che rispondono alle ferite con meccanismi di guarigione, la risposta degli alberi è chiamata "compartimentazione", un processo che viene modellato attraverso il concetto di CODIT (compartimentazione del danno/decadimento negli alberi), sviluppato da Shigo e Marx (1977) ed esteso da Morris et al (2020). Il CODIT descrive come gli alberi, abbiano la capacità di limitare e isolare le ferite per mitigare la diffusione del danno, la cui efficacia dipende dalla specie o persino dalla genetica e dallo stato di salute dell'albero stesso.

L'uso di tappi per sigillare gli orifici è controverso perché, per impedire l'accesso a insetti o altri patogeni, si limita l'accesso all'ossigeno per rallentare i meccanismi naturali di ossidazione inerenti alla compartimentazione. Studi recenti indicano un'influenza negativa della presenza di un tappo come metodo di sigillatura per una risposta efficiente della ferita (Archer et al., 2023; Hauer et al., 2022; Acimović et al., 2016).

In questo contesto, l'obiettivo principale del presente studio è quello di valutare come i seguenti fattori influenzino la velocità di chiusura della ferita e la compartimentazione: (1) le dimensioni della ferita (2) l'uso di un tappo sigillante e (3) la specie trattata. Un obiettivo secondario sarebbe quello di scoprire l'influenza delle dimensioni del tappo sulla velocità di assorbimento.

Materiali e metodi

Nel luglio 2023, quando gli alberi avevano sviluppato completamente le foglie, è stata effettuata un'unica applicazione. Su alberi situati nel Parco Scientifico e Tecnologico di Rabanales, situato alla periferia di Córdoba, sono state studiate quattro specie comuni nell'ambiente urbano: olmo (*Ulmus pumila*), pioppo (*Populus nigra*), platano d'ombra (*Platanus x hispanica*) e arancio amaro (*Citrus aurantium*), da cui sono stati selezionati 10 esemplari (10 repliche), tutti con perimetro



Figura 1. Scala di chiusura della ferita 0: 0% di chiusura, 1: 25% di chiusura, 2: 50% di chiusura, 3: 75% di chiusura, 4: 100% di chiusura, 5: foro di 6 mm sigillato con tappo di piantaggine.

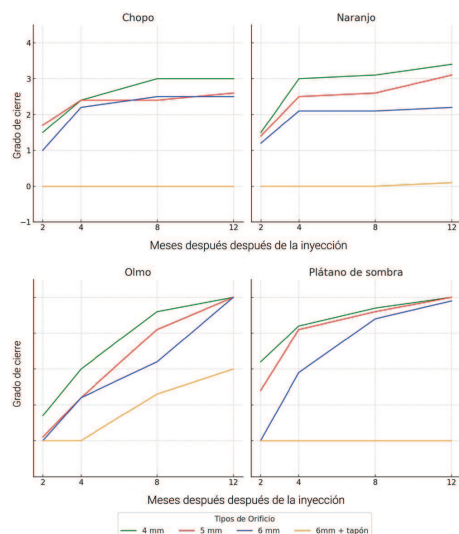


Figura 2: Medias de la tasa de compartimentación por especie y tipo de orificio obtenidas por el test no paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

tro de tronco superior a 70 cm, lo que permitió realizar cuatro tratamientos en el mismo tronco, tres con tamaños de orificios de 4, 5 y 6 mm y el restante consistente en la introducción en otro de 6 mm de un tapón de plástico biodegradable (ácido poli-láctico, PLA) dentro del orificio. El diseño experimental fue aleatorio completamente al azar compuesto de cuatro especies, cuatro tratamientos y diez repeticiones. Los análisis estadísticos se basaron principalmente en análisis no paramétricos de Kruskal-Wallis para estudiar el efecto del tamaño del orificio y su sellado sobre la compartimentación. Además, se empleó un análisis estadístico descriptivo para cuantificar el daño producido por el uso de tapones selladores.

El sistema de inyección empleado fue Ynject, patentado de Fertinyect, que trabaja a baja presión (2,5 bar), y alto volumen (50 mL) de líquido (agua en este ensayo). Para cada tamaño del orificio se utilizaron conectores (cánulas) de diferentes grosores, que se ajustaran adecuadamente para una completa estanqueidad en el orificio. Una vez absorbida el agua, se retiraron los dispositivos y se introdujeron tapones en los orificios correspondientes, a suficiente profundidad para no interferir en la posterior acción del cambium.

A lo largo del ensayo, se realizaron revisiones periódicas mensuales para evaluar el estado de los orificios, clasificándolos con una escala del 0 al 4 en función del porcentaje de cierre (escala descrita en el pie de la Figura 1). Además, se registraron posibles daños asociados con posterioridad en el tronco, como grietas, chancros o exudaciones.

Como dato adicional, se midió la velocidad de absorción en todos los dispositivos, con objeto de establecer una posible relación entre la disminución del diámetro del orificio y la velocidad de absorción.

Resultados y discusión

Los resultados, mostrados en la Figura 2, demostraron que existe una diferencia significativa en el grado de cierre, dependiente del tratamiento aplicado. En general, el orificio de 4 mm es el que mejor comportamiento muestra en todas las especies, con diferencias significativas respecto a los de 5 y 6 mm, que no presentan diferencias significativas entre sí. Este análisis permite probar que el diámetro de los orificios afectó significativamente al grado de cierre, siendo aquellos de mayor diámetro los que menor tasa mostraban. Estos resultados concuerdan con varios resultados descritos por otros autores en otras especies (Docco-la y col., 2011, 2012; Docco-la y Wild, 2012).

Por otro lado, los orificios con tapón presentaron una tasa cercana a nula para todas las especies, excepto para el olmo, que sí consiguió cierto grado de cierre, incluso con los tapones. Como consecuencia asociada se observaron daños en un 67% de los orificios para los que se usó tapón, frente a un porcentaje despreciable en los que no tenían tapón. Estos resultados están en consonancia con los resultados obtenidos en trabajos de otros investigadores, como los de Hauer y col. (2022) en fresno, Archer y col. (2023) en cítricos o Ćimović y col. (2016) en manzano.

Respecto a la influencia de la especie (Figura 1), se usó el orificio de 4 mm para comparar la tasa de compartimentación, encontrándose que el olmo y el plátano de sombra tienen un mayor grado de cierre, logrando cerrar completamente el 70% de los orificios ocho meses después de la aplicación. Les sigue el naranjo, que cierra completamente el 50% de los orificios a los 12 meses y, por último, el chopo no logra cerrar completamente los orificios al cabo de 12 meses, con el 100% de los orificios en grado 3 (75% de cierre). Sin embargo, 16 meses después de la aplicación, el chopo ya mostró que un 60% de los orificios de 4 mm estaban completamente cerrados (resultados no mostrados).

Finalmente, para todas las especies el análisis estadístico indicó que el tamaño de los orificios no provoca diferencias significativas en la velocidad de absorción, de acuerdo con Sánchez Zamora y Fernández Escobar (2000).

Conclusiones

Con el objetivo de conocer qué prácticas dentro de la endoterapia la conducen a ser una práctica más sostenible y responsable, se ha demostrado que las heridas asociadas, al menos para la técnica empleada en este estudio (presión $\leq 2,5$ bar), y la inyección de agua, no tienen incidencia negativa en la salud de la planta. Sin embargo, de los resultados también se desprende la importancia de considerar el tamaño del orificio al planificar las aplicaciones de inyección en el tronco, con el fin de maximizar la eficacia del tratamiento y minimizar el daño al árbol.

Sin embargo, siempre es deseable facilitar que la respuesta a ésta por parte de la planta sea lo más rápida y eficaz posible, para lo que fundamental el uso de líquidos de inyección compatibles con la fisiología de la planta. En primer lugar, el presente estudio demuestra una influencia significativa del tamaño del orificio; al no observarse ralentización en

Risultati e discussione

I risultati, riportati nella Figura 2, hanno dimostrato che esiste una differenza significativa nel grado di chiusura, a seconda del trattamento applicato. In generale, il foro da 4 mm è il più performante in tutte le specie, con differenze significative rispetto ai fori da 5 e 6 mm, che non differiscono significativamente tra loro. Questa analisi dimostra che il diametro dei fori influisce significativamente sul grado di chiusura, con quelli di diametro maggiore che mostrano il tasso di chiusura più basso. Questi risultati sono in accordo con quelli descritti da altri autori in altre specie (Docco-la et al., 2011, 2012; Docco-la e Wild, 2012).

D'altra parte, i fori tappati hanno mostrato un tasso vicino allo zero per tutte le specie, ad eccezione dell'olmo, che ha raggiunto un certo grado di chiusura, anche con i tappi. Come conseguenza, sono stati osservati danni nel 67% dei fori tappati, rispetto a una percentuale trascurabile nei fori non tappati. Questi risultati sono in linea con quelli ottenuti in lavori di altri ricercatori, come Hauer et al. (2022) sul frassino, Archer et al. (2023) sugli agrumi o Ćimović et al.

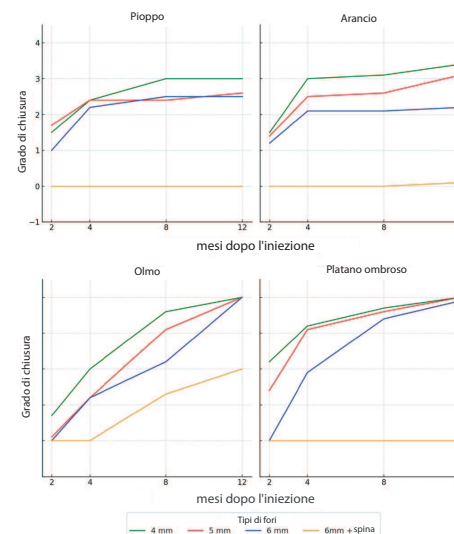


Figura 2: Medie del tasso di compartimentazione per specie e tipo di foro ottenute con il test non parametrico di Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

del tronco superiore a 70 cm, il che ha permesso di effettuare quattro trattamenti sullo stesso tronco, tre con fori di 4, 5 e 6 mm e il restante consistente nell'introduzione di un tappo di plastica biodegradabile (acido polilattico, PLA) all'interno del foro in un altro foro di 6 mm. Il disegno sperimentale era completamente randomizzato con quattro specie, quattro trattamenti e dieci repliche. Le analisi statistiche si sono basate principalmente sulle analisi non parametriche di Kruskal-Wallis per studiare l'effetto della dimensione dell'orificio e della sigillatura sulla compartimentazione. Inoltre, l'analisi statistica descrittiva è stata utilizzata per quantificare i danni causati dall'uso dei tappi di chiusura.

Il sistema di iniezione utilizzato è stato Ynject, brevettato da Fertinyect, che funziona a bassa pressione (2,5 bar) e ad alto volume (50 mL) di liquido (acqua in questa prova). Per ogni dimensione dell'orificio sono stati utilizzati connettori (cannule) di diverso spessore, adatti a garantire la completa tenuta stagna dell'orificio. Una volta assorbita l'acqua, i dispositivi sono stati rimossi e i tappi sono stati inseriti negli orifici corrispondenti, a una profondità sufficiente per non interferire con la successiva azione del cambium.

Per tutta la durata della sperimentazione, sono stati effettuati controlli mensili regolari per valutare le condizioni degli orifici, valutandoli su una scala da 0 a 4 in base alla percentuale di chiusura (scala descritta in fondo alla Figura 1). Inoltre, sono stati registrati eventuali danni associati al tronco, come crepe, cancri o trasudamenti.

Come ulteriore input, è stato misurato il tasso di assorbimento per tutti i dispositivi, al fine di stabilire una possibile relazione tra la diminuzione del diametro dell'orificio e il tasso di assorbimento.

Per quanto riguarda l'influenza della specie (Figura 1), è stato utilizzato il foro di 4 mm per confrontare il tasso di compartimentazione ed è emerso che l'olmo e la specie che hanno un grado di chiusura maggiore, chiudendo completamente il 70% dei fori otto mesi dopo l'applicazione. Seguono l'arancio, che chiude completamente il 50% dei fori dopo 12 mesi e, infine, il pioppo non riesce a chiudere completamente i fori dopo 12 mesi, con il 100% dei fori al grado 3 (75% di chiusura). Tuttavia, 16 mesi dopo l'applicazione, il pioppo mostrava già una chiusura completa del 60% dei fori di 4 mm (risultati non mostrati).

Infine, per tutte le specie, l'analisi statistica ha indicato che la dimensione dei fori non causa differenze significative nel tasso di assorbimento, secondo Sánchez Zamora e Fernández Escobar (2000).

Conclusioni

Con l'obiettivo di scoprire quali pratiche all'interno dell'endoterapia la portano a essere una pratica più sostenibile e responsabile, è stato dimostrato che le ferite associate, almeno per la tecnica utilizzata in questo studio (pressione $\leq 2,5$ bar), e l'iniezione di acqua, non hanno un impatto negativo sulla salute della pianta. Tuttavia, i risultati suggeriscono anche l'importanza di considerare le dimensioni del foro quando si pianificano le applicazioni di iniezione al tronco, al fine di massimizzare l'efficacia del trattamento e minimizzare i danni all'albero.

Tuttavia, è sempre auspicabile che la risposta della pianta sia la più rapida ed efficiente possibile, e l'uso di fluidi di iniezione siano compatibili con la fisiologia della pianta è essenziale. In primo luogo, il presente studio dimostra un'influenza significativa delle dimensioni dell'orificio; non è stato osservato alcun rallentamento



Figura 3. Daños en los puntos de inyección sellados con tapón biodegradable.

la absorción asociada a la disminución de los orificios, al menos hasta 4 mm, es recomendable que, en la medida de lo posible, las técnicas de endoterapia tiendan a disminuir este tamaño, ya que, sin afectar a la operatividad de la técnica, se fomentaría una más rápida compartimentación.

Por otro lado, el uso de tapones tuvo una clara incidencia negativa, retardando o incluso impidiendo el cierre y generando en ocasiones daños en el tronco. En este sentido, si el objeto del taponamiento es impedir el acceso de patóge-

nos, se recomendaría en su lugar otro tipo de medio menos invasivo, que cumpla con los requisitos de 1) no interferir con la actividad cambial y 2) permitir la entrada de oxígeno.

Entre las especies evaluadas, el olmo y el plátano de sombra demostraron una notable capacidad de compartimentación en comparación con otras especies, aunque las otras especies estudiadas no presentan evidencias de ninguna incidencia negativa por el uso de endoterapia.

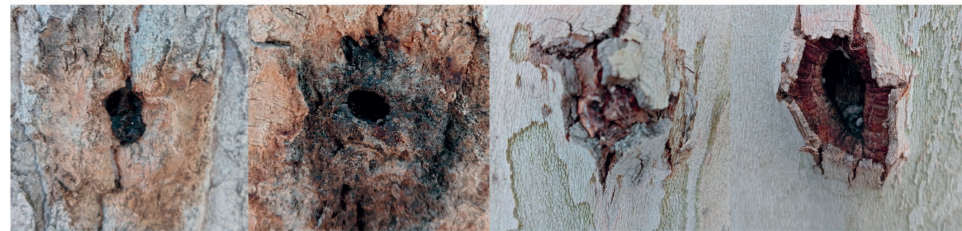


Figura 3. Danno ai siti di iniezione sigillati con un tappo biodegradabile.

dell'assorbimento associato a una riduzione delle dimensioni dei fori, almeno fino a 4 mm, si raccomanda che, per quanto possibile, le tecniche di endoterapia tendano a ridurre tali dimensioni, poiché, senza pregiudicare l'operatività della tecnica, si favorirebbe una compartimentazione più rapida.

D'altra parte, l'uso di tappi ha avuto un chiaro impatto negativo, ritardando o addirittura impedendo la chiusura e talvolta causando danni al tronco. In questo senso, se lo scopo della tamponatura è quello di impedire l'accesso di

agenti patogeni, sarebbe invece consigliabile un mezzo meno invasivo, che soddisfi i requisiti di 1) non interferire con l'attività cambiale e 2) consentire l'ingresso di ossigeno.

Tra le specie valutate, l'olmo e il platano da ombra hanno mostrato una notevole capacità di compartimentazione rispetto alle altre specie, anche se le altre specie studiate non mostrano prove di un impatto negativo dall'uso dell'endoterapia.

Bibliografía

- Adimović, S. G., Cregg, B. M., Sundin, G. W., & Wise, J. C. (2016). Comparison of drill-and needle-based tree injection technologies in healing of trunk injection ports on apple trees. *Urban Forestry & Urban Greening*, 19, 151-157.
- Archer, L., Kunwar, S., Alferez, F., Batuman, O., & Albrecht, U. (2023). Trunk injection of oxytetracycline for huanglongbing management in mature grapefruit and sweet orange trees. *Phytopathology*, 113(6), 1010-1021.
- Archer, L., Qureshi, J., & Albrecht, U. (2022). Efficacy of trunk injected imidacloprid and oxytetracycline in managing huanglongbing and Asian citrus psyllid in infected sweet orange (*Citrus sinensis*) trees. *Agriculture*, 12(10), 1592.
- Doccola, J. J., & Wild, P. M. (2012). Tree injection as an alternative method of insecticide application. *Insecticides—basic and other applications*, 61-78.
- Doccola, J. J., Hascher, W., Joseph Aiken, J., & Wild, P. M. (2012). Treatment strategies using imidacloprid in Hemlock Woolly Adelgid (*Adelges tsugae* Annand) infested eastern Hemlock (*Tsuga canadensis* Carrière) trees. *Arboriculture and Urban Forestry*, 38(2), 41.
- Doccola, J. J., Smitley, D. R., Davis, T. W., Aiken, J. J., & Wild, P. M. (2011). Tree wound responses following systemic insecticide trunk injection treatments in green ash (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh.) as determined by destructive autopsy. *Arboriculture and Urban Forestry*, 37(1), 6.
- Hauer, R. J., Ball, J. J., & North, E. (2022). Observation of external wounding on green ash (*fraxinus pennsylvanica* Marshall) trees associated with tree injection systems. *Forests*, 13(11), 1802.
- Haugen, L., & Stennes, M. (1999). Fungicide injection to control Dutch elm disease: Understanding the options. *Plant Diagnosticians Quarterly*, 20(2), 29-38.
- Sánchez Zamora, M. A., & Fernández Escobar, R. (2000). Injector-size and the time of application affects uptake of tree trunk-injected solutions.
- Morris, H., Hietala, A. M., Jansen, S., Ribera, J., Rosner, S., Salmeia, K. A., & Schwarze, F. W. (2020). Using the CODIT model to explain secondary metabolites of xylem in defence systems of temperate trees against decay fungi. *Annals of Botany*, 125(5), 701-720.
- Romero, M. A., González, M., Serrano, M. S., & Sánchez, M. E. (2019). Trunk injection of fosetyl-aluminium controls the root disease caused by *Phytophthora cinnamomi* on *Quercus ilex* woodlands. *Annals of Applied Biology*, 174(3), 313-318.
- Shigo, A. L., & Marx, H. G. (1977). *Compartmentalization of decay in trees* (No. 405). Department of Agriculture, Forest Service.
- Sousa, E., Naves, P., & Vieira, M. (2013). Prevention of pine wilt disease induced by *Bursaphelenchus xylophilus* and *Monochamus galloprovincialis* by trunk injection of emamectin benzoate. *Phytoparasitica*, 41, 143-148.

Bibliografia

- Adimović, S. G., Cregg, B. M., Sundin, G. W., & Wise, J. C. (2016). Comparison of drill-and needle-based tree injection technologies in healing of trunk injection ports on apple trees. *Urban Forestry & Urban Greening*, 19, 151-157.
- Archer, L., Kunwar, S., Alferez, F., Batuman, O., & Albrecht, U. (2023). Trunk injection of oxytetracycline for huanglongbing management in mature grapefruit and sweet orange trees. *Phytopathology*, 113(6), 1010-1021.
- Archer, L., Qureshi, J., & Albrecht, U. (2022). Efficacy of trunk injected imidacloprid and oxytetracycline in managing huanglongbing and Asian citrus psyllid in infected sweet orange (*Citrus sinensis*) trees. *Agriculture*, 12(10), 1592.
- Doccola, J. J., & Wild, P. M. (2012). Tree injection as an alternative method of insecticide application. *Insecticides—basic and other applications*, 61-78.
- Doccola, J. J., Hascher, W., Joseph Aiken, J., & Wild, P. M. (2012). Treatment strategies using imidacloprid in Hemlock Woolly Adelgid (*Adelges tsugae* Annand) infested eastern Hemlock (*Tsuga canadensis* Carrière) trees. *Arboriculture and Urban Forestry*, 38(2), 41.
- Doccola, J. J., Smitley, D. R., Davis, T. W., Aiken, J. J., & Wild, P. M. (2011). Tree wound responses following systemic insecticide trunk injection treatments in green ash (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh.) as determined by destructive autopsy. *Arboriculture and Urban Forestry*, 37(1), 6.
- Hauer, R. J., Ball, J. J., & North, E. (2022). Observation of external wounding on green ash (*fraxinus pennsylvanica* Marshall) trees associated with tree injection systems. *Forests*, 13(11), 1802.
- Haugen, L., & Stennes, M. (1999). Fungicide injection to control Dutch elm disease: Understanding the options. *Plant Diagnosticians Quarterly*, 20(2), 29-38.
- Sánchez Zamora, M. A., & Fernández Escobar, R. (2000). Injector-size and the time of application affects uptake of tree trunk-injected solutions.
- Morris, H., Hietala, A. M., Jansen, S., Ribera, J., Rosner, S., Salmeia, K. A., & Schwarze, F. W. (2020). Using the CODIT model to explain secondary metabolites of xylem in defence systems of temperate trees against decay fungi. *Annals of Botany*, 125(5), 701-720.
- Romero, M. A., González, M., Serrano, M. S., & Sánchez, M. E. (2019). Trunk injection of fosetyl-aluminium controls the root disease caused by *Phytophthora cinnamomi* on *Quercus ilex* woodlands. *Annals of Applied Biology*, 174(3), 313-318.
- Shigo, A. L., & Marx, H. G. (1977). *Compartmentalization of decay in trees* (No. 405). Department of Agriculture, Forest Service.
- Sousa, E., Naves, P., & Vieira, M. (2013). Prevention of pine wilt disease induced by *Bursaphelenchus xylophilus* and *Monochamus galloprovincialis* by trunk injection of emamectin benzoate. *Phytoparasitica*, 41, 143-148.