

# The serial and generation intervals from SARS-CoV-2 transmission dynamics and their potential application in the epidemiology of two citrus diseases

## Los intervalos serial y de generación de la dinámica de transmisión de SARS-CoV-2 y su aplicación potencial en la epidemiología de dos enfermedades de los cítricos

Received: April 03, 2021.

Accepted: April 29, 2021.

**Oscar Pérez-Hernández\***, Department of Plant Sciences and Plant Pathology, Montana State University, Bozeman, MT 59717, USA; **Francisco Sautua**, <sup>1</sup>Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina; **Santiago Domínguez-Monge**, Campo Experimental Ixtacuaco, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Tlapacoyan, Veracruz, CP 93600, México; **Carlos Cecilio Góngora-Canul**, Department of Botany and Plant Pathology, Purdue University, West Lafayette, IN, 47907; **<sup>1</sup>Marcelo Carmona\***. \*Corresponding authors: oscar.perezhernandez@montana.edu; carmonam@agro.uba.ar

Pérez-Hernández O, Sautua F, Domínguez-Monge S, Góngora-Canul CC and Carmona M. 2021. The serial and generation intervals from SARS-CoV-2 transmission dynamics and their potential application in the epidemiology of two citrus diseases. Mexican Journal of Phytopathology 39(4): 307-327.

**DOI:** <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2021-23>

**Abstract.** Since the start of the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) causing the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic, the concepts of serial and generation intervals have been used as key epidemiological measures to understand the transmission dynamics of the disease. We carefully examined and repurposed these concepts to the understanding of the transmission chain and dynamics of two major

**Resumen.** Desde el inicio del síndrome respiratorio agudo grave del Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) responsable de la pandemia COVID-19, los conceptos de intervalo serial e intervalo de generación se han usado como medidas epidemiológicas clave para entender la dinámica de transmisión de la enfermedad. En esta revisión, estos conceptos se han examinado y reorientado al entendimiento de la cadena de transmisión y dinámica de dos enfermedades importantes de los cítricos: la tristeza de los cítricos (causada por Citrus tristeza virus, CTV) y el Huanglongbing (causado por *Candidatus Liberibacter asiaticus*). Basados en la definición fundamental de los conceptos, la revisión define la cadena de transmisión del SARS-CoV-2 y del CTV y CLas, señalando sus mayores diferencias y similitudes. Posteriormente, la revisión discute el cálculo de los intervalos y sus distribuciones para

citrus diseases: tristeza virus (caused by Citrus tristeza virus, CTV) and Huanglongbing (caused by *Candidatus Liberibacter asiaticus*). Following the fundamental definition of the concepts, the review delineates the transmission chain in the SARS-CoV-2 and that of CTV and CLAs, pointing out their major similarities and differences. Then, it discusses estimation of the serial and generation intervals and their distributions for both plant diseases. Identification of infector-infectee tree pairs in a transmission chain within orchards is proposed through use of disease incidence data from intensive mapping, spatial pattern analysis, conditional probability, and simulation approaches. Like in SARS-CoV-2 dynamics, pre-symptomatic transmission in these two plant pathosystems is of epidemiological significance. Hence, estimation of the serial and generation interval can lay the foundations to understanding of early disease transmission dynamics, thus the implementation of vector control measures or eradication of infected trees. We hope this review motivates discussions on estimation and usage of these concepts to enhance understanding of the epidemiology of both of the herein examined citrus diseases.

**Key words:** COVID-19, spatial pattern, CTV, HLB, Monte Carlo simulation

### SARS-CoV-2 contagium analysis

The rapid global spread of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) causing the coronavirus disease COVID-19 set out a tremendous amount of research for development of control and mitigation measures of the disease in affected regions. Therewith, several epidemiological concepts have been key to the understanding of the virus transmission and spread and, with it, planning

ambas enfermedades. La identificación de pares de árboles infector-infectado en una cadena de transmisión dentro de huertos se propone a través del uso de datos de incidencia de enfermedad de mapeos intensivos, análisis de patrón espacial, probabilidad condicional y métodos de simulación. Al igual que en la dinámica del SARS-CoV-2, la transmisión pre-sintomática en estos dos patosistemas es de significancia epidemiológica. De ahí que el cálculo del intervalo serial y de generación puede ayudar a sentar las bases para el entendimiento de la dinámica de transmisión temprana, y con ello, la implementación de medidas de control del vector o la erradicación de árboles enfermos. Se espera que esta revisión motive discusiones sobre el cálculo y uso de estos conceptos para mejorar el entendimiento de la epidemiología de las enfermedades examinadas en este trabajo.

**Palabras clave:** COVID-19, patrón espacial, VTC, HLB, simulación Monte Carlo.

### Análisis del contagio SARS-CoV-2

La rápida propagación global del síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2) causante de la enfermedad del coronavirus COVID-19 desató una enorme cantidad de investigación para el desarrollo de medidas de control y mitigación de la enfermedad en regiones afectadas. Con ello, varios conceptos epidemiológicos han sido clave para entender la transmisión y la propagación del virus y, con ello, planificar para su intervención (Li *et al.*, 2021). Entre esos conceptos se encuentran el **intervalo serial, IS**: el período entre el inicio de los síntomas de un infector y un infectado, y el **intervalo de generación, IG**: el tiempo entre eventos de infección en un par de infector-infectado (Lehtinen *et al.*, 2021). El IS

for intervention (Li *et al.*, 2021). Among those concepts are the **serial interval, SI**: the period between symptom onset of an infector and an infectee, and the **generation interval, GI**: the time between infection events in an infector-infectee pair (Lehtinen *et al.*, 2021). The SI has proven to be an indicator for effective epidemic surveillance and is a proxy to GI estimation. The GI is essential to estimation of the basic reproductive number, that is, the average number of individuals infected by a single infector in a susceptible population (Rothman *et al.*, 2013). Both the SI and GI are the basis in epidemiological models aiming at guiding infectious disease intervention strategies (Ganyani *et al.*, 2020).

In this review, we examined the relevance of the SI and GI to the understanding of the dynamics of two important citrus diseases: tristeza virus and Huanglongbing (HLB). La tristeza is a disease caused by a phloem-limited virus (CTV) of the family Closteroviridae, genus Closterovirus, which infects citrus and related species (Dawson *et al.*, 2013). HLB, previously referred to as citrus greening disease, is one of the most destructive diseases of citrus worldwide caused by at least three species of the phloem-limited bacterium *Candidatus Liberibacter* (Bové, 2006). These diseases are the most prominent problems to production of citrus in Mexico and other citrus-growing regions of the world, where they have killed millions of citrus trees (Moreno *et al.*, 2008; Gottwald *et al.*, 2007; Spreen *et al.*, 2014; Dawson *et al.*, 2015; Dala-Paula *et al.*, 2019). Both diseases are vector-borne, with CTV transmitted primarily by the brown aphid *Toxoptera citricida* and CLas by *Diaphorina citri*.

Like SARS-CoV-2, CTV and CLas exhibit a period of transmission in which diseased individuals manifest no symptoms, yet are already contagious (Lee *et al.*, 2015; Moreno *et al.*, 2008). Spread of

ha demostrado ser un indicador para la vigilancia efectiva de epidemia y es un factor necesario para el cálculo del IG. El IG es esencial para estimar el número reproductivo básico, es decir, el promedio de individuos infectados por un solo infector en una población susceptible (Rothman *et al.*, 2013). Tanto el IS como el IG son las bases de modelos epidemiológicos que buscan guiar las estrategias de intervención de enfermedades infecciosas (Ganyani *et al.*, 2020).

En esta revisión examinamos la relevancia del IS y del IG para comprender la dinámica de dos enfermedades importantes en cítricos: el virus de la tristeza de los cítricos (VTC) y Huanglongbing (HLB). La tristeza de los cítricos es una enfermedad causada por un virus limitado al floema de la familia Closteroviridae, género Closterovirus, que infecta a cítricos y a especies relacionadas (Dawson *et al.*, 2013). HLB, antes conocida por su nombre en inglés, *Citrus greening disease*, es una de las enfermedades más destructivas de los cítricos en el mundo, causada por al menos tres especies de la bacteria *Candidatus Liberibacter* (Bové, 2006), limitada al floema. Estas enfermedades son las más destacadas para la producción de cítricos en México y otras regiones cítrícolas del mundo, en donde han matado a millones de árboles de cítricos (Moreno *et al.*, 2008; Gottwald *et al.*, 2007; Spreen *et al.*, 2014; Dawson *et al.*, 2015; Dala-Paula *et al.*, 2019). Ambas enfermedades son transmitidas por vectores: el VTC transmitido principalmente por el pulgón café *Toxoptera citricida* y CLas, por *Diaphorina citri*.

Al igual que el SARS-CoV-2, VTC y HLB presentan un período de transmisión en el que los individuos enfermos no presentan síntomas, aunque ya son contagiosos (Lee *et al.*, 2015; Moreno *et al.*, 2008). Sin embargo, la propagación de VTC y HLB durante esta fase asintomática es un tema del cual todavía se tiene poco conocimiento mediante el uso

CTV and CLAs during such asymptomatic phase, however, is still poorly understood through usage of traditional epidemiological parameters such as disease infection rates, area under the disease progress curve, and dispersal distances. In contrast, early transmission dynamics of COVID-19 have been accurately characterized using the SI and GI as epidemiological measures (Ganyani *et al.*, 2020; Ferretti *et al.*, 2020; Lehtinen *et al.*, 2021; Li *et al.* 2021; Mettler *et al.*, 2020; Ng *et al.*, 2021). The objective of this review is to discuss the meaning of the SI and GI to put into perspective their potential usefulness or lack thereof in enhancing our understanding of the epidemiology of CTV and HLB. We discuss approaches to identification of infector-infectee tree pairs, which would be an important step in the SI and GI determination; we also discuss the estimation of the intervals and their distribution for both diseases. It is envisaged that this review motivates discussions on estimation and usage of these concepts to enhance understanding of the epidemiology of both of the herein examined citrus diseases.

### Serial and generation intervals applications

**Definitions.** The serial interval (SI) and the generation interval (GI, also referred to as the generation time) are key epidemiological parameters used in public health to characterize the transmission dynamics of diseases such as COVID-19 (Ganyani *et al.*, 2020; Ferretti *et al.*, 2020; Li *et al.* 2021; Mettler *et al.*, 2020; Ng *et al.*, 2021; Lehtinen *et al.*, 2021). The SI implies the time difference between symptom onset of an infector and an infectee, whereas the GI implies the time difference between being infected and infecting others or the time between infection events in an infector-infectee pair (Figure 1) (Lehtinen *et al.*, 2021). Other concepts that are used in the study

de parámetros epidemiológicos tradicionales, tales como tasas de infección, el área bajo la curva de progreso de la enfermedad y distancias de dispersión. Por el contrario, las dinámicas tempranas de transmisión de COVID-19 han sido caracterizadas con precisión con el uso del SI y el IG como medidas epidemiológicas (Ganyani *et al.*, 2020; Ferretti *et al.*, 2020; Lehtinen *et al.*, 2021; Li *et al.* 2021; Mettler *et al.*, 2020; Ng *et al.*, 2021). El objetivo de esta revisión es discutir el significado de SI e IG para poner en perspectiva su utilidad potencial, o ausencia de la misma, para comprender más a fondo la epidemiología del VTC y HLB. Aquí tratamos el tema de los enfoques para la identificación de pares de árboles infector-infectado, que sería un paso importante en la determinación del SI e IG; también tratamos la estimación de los intervalos y su distribución para ambas enfermedades. Con esta revisión buscamos generar discusiones sobre la estimación y el uso de estos conceptos para promover la comprensión de la epidemiología de las dos enfermedades de cítricos aquí tratadas.

### Aplicaciones de los intervalos serial y de generación

**Definiciones.** El intervalo serial (IS) y el intervalo de generación (IG, también conocido como el tiempo de generación) son parámetros epidemiológicos clave de uso en el sector de salud pública para caracterizar las dinámicas de transmisión de enfermedades como el COVID-19 (Ganyani *et al.*, 2020; Ferretti *et al.*, 2020; Li *et al.* 2021; Mettler *et al.*, 2020; Ng *et al.*, 2021; Lehtinen *et al.*, 2021). El IS implica la diferencia de tiempo entre el inicio de síntomas en un infector y un infectado, mientras que el IG implica la diferencia de tiempo entre infectarse e infectar a otros, o el tiempo entre eventos de infección en un par infector-infectado (Figura 1) (Lehtinen *et al.*, 2021). Otros conceptos usados en



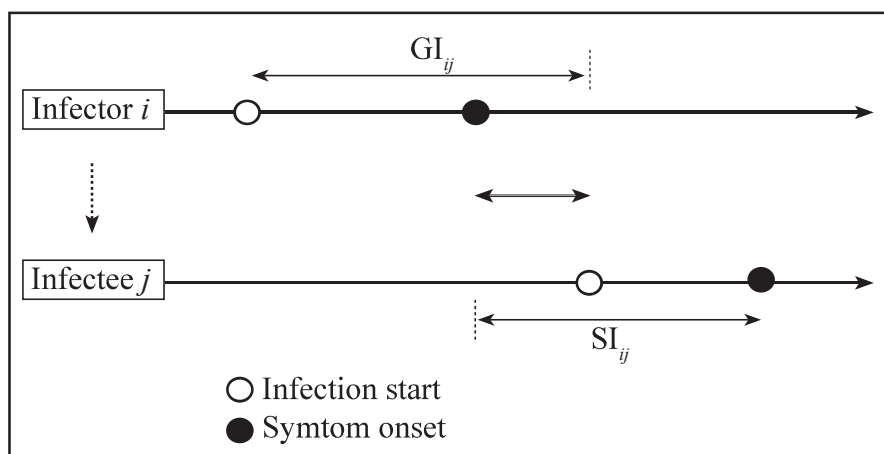


Figure 1. Representation of the serial interval ( $SI_{ij}$ ) and the generation interval or generation time ( $GI_{ij}$ ) in an infector  $i$ -infectee  $j$  COVID-19 transmission chain. Hollow arrow in the middle represents the time length from symptom onset of  $i$  to infection of  $j$ . The incubation period (not indicated) is the time from start of infection (white circle) to symptom onset (black circle) in each individual. Based on Lehtinen *et al.* (2021).

Figura 1. Representación del intervalo serial ( $SI_{ij}$ ) y el intervalo de generación o el tiempo de generación ( $GI_{ij}$ ) en una cadena de transmisión de infectante  $i$ -infectado  $j$  de COVID-19. La flecha hueca en el medio representa el tiempo desde el inicio de los síntomas de  $i$  hasta la infección de  $j$ . El período de incubación (no indicado) es el tiempo desde el inicio de la infección (círculo blanco) hasta el inicio de los síntomas (círculo negro) en cada individuo. Basado en Lehtinen *et al.* (2021).

of infectious diseases are the basic reproductive number ( $R_0$ ) and the incubation period. The basic reproductive number, a measure of the transmission potential of a disease, quantifies the average number of secondary infections produced by a typical case of an infection in a population of all susceptible individuals (Rothman *et al.*, 2013). The incubation period (IP) is the elapsed time from infection to symptom onset. In plant pathology, the IP is defined as the time between infection by a pathogen and the onset of symptom expression in the host plant. **Latency** or latent period is defined for viral diseases or for diseases caused by fastidious bacteria similar to viruses, as the time between a tree infection and the onset of infectivity. For crop diseases, the incubation and latent periods begin at infection and are related temporal processes (Agrios, 2005). In both humans and plants, newly infected asymptomatic individuals will initially remain in their latent period and do not transmit the pathogen (Leung *et al.*, 2018). However, when

el estudio de enfermedades infecciosas son el número reproductivo básico ( $R_0$ ) y el período de incubación. El número reproductivo básico, una medida del potencial de transmisión de una enfermedad, cuantifica el promedio de infecciones secundarias producidas por un caso típico de infección en una población de sólo individuos susceptibles (Rothman *et al.*, 2013). El período de incubación (PI) es el tiempo transcurrido desde la infección hasta el inicio de los síntomas. En fitopatología, el PI se define como el tiempo entre la infección por un patógeno y el inicio de la expresión de síntomas en la planta hospedante. La **latencia** o el período de latencia se define, para las enfermedades virales o enfermedades causadas por bacterias fastidiosas similares a los virus, como el tiempo entre una infección arbórea y el inicio de la infectividad. Para las enfermedades de cultivos, los períodos de incubación y latencia empiezan con la infección y son procesos temporales relacionados (Agrios, 2005). Tanto en humanos como en plantas, los individuos

the GI is fulfilled, asymptomatic individuals can become infective and transmit the causative agent of the disease (Gottwald *et al.*, 2002; Rimbaud *et al.*, 2015; Qian *et al.*, 2020; Johansson *et al.*, 2021). By definition, latency ends when infectivity begins. Generally, the incubation period is longer than the latent period. Unlike the infection process caused by the SARS-CoV-2 virus strain directly between humans, viral and bacterial infections in trees are often transmitted between fruit trees by an insect vector. Thus, in the latter case, transmission is not direct, but depends on variables that affect the biology and ecology of the vector (Gottwald *et al.*, 1999; Canale *et al.*, 2017). Assessing or determining the incubation and latent periods for vector-borne diseases remains a challenge (Rimbaud *et al.*, 2015).

#### Transmission chain of the examined diseases

**COVID-19.** The COVID-19 is an infectious disease caused by a newly identified Coronavirus (Coronaviridae: Beta-coronavirus), an enveloped, positive single-stranded RNA virus with the characteristic “crown-like” spikes on its surface. The first case was identified in Wuhan, China, in December 2019 (Asselah *et al.*, 2021). Symptoms of the disease can be described as mild in most people, although it can also cause severe illness and even death in others (Mavrodiev *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2020). The chain of infection of COVID-19, as defined in public health, refers to the series of interconnected stages since an infectious agent leaves its host, is conveyed by some mode of transmission, until it enters and infects a new susceptible host. The chain of infection of COVID-19 has an exponential phase, as infected and healthy hosts get within a close-range distance thus favoring direct or indirect transmission (Wu *et al.*, 2020). Direct transmission can occur through kissing or sharing eating utensils, whereas

asintomáticos recién infectados permanecen, inicialmente, en su período latente y no transmiten el patógeno (Leung *et al.*, 2018). Sin embargo, cuando el IG se completa, los individuos asintomáticos pueden volverse infecciosos y transmitir el agente causal de la enfermedad (Gottwald *et al.*, 2002; Rimbaud *et al.*, 2015; Qian *et al.*, 2020; Johansson *et al.*, 2021). Por definición, la latencia termina cuando la infectividad empieza. Por lo general, el período de incubación es más largo que el período de latencia. A diferencia del proceso de infección causado por la cepa viral de SARS-CoV-2 directamente entre humanos, las infecciones virales y bacterianas en árboles suelen transmitirse entre árboles frutales por un insecto vector. Por ello, en el último caso, la transmisión no es directa, sino que depende de variables que afectan la biología y ecología del vector (Gottwald *et al.*, 1999; Canale *et al.*, 2017). La evaluación o determinación de los períodos de incubación y latencia para enfermedades transmitidas por vectores continúa siendo todo un desafío (Rimbaud *et al.*, 2015).

#### Cadena de transmisión de las enfermedades estudiadas

**COVID-19.** El COVID-19 es una enfermedad infecciosa causada por un Coronavirus (Coronaviridae: Beta-coronavirus) identificado recientemente; un virus de ARN monocatenario positivo, envuelto con los característicos picos tipo “corona” en su superficie. El primer caso fue identificado en Wuhan, China, en diciembre de 2019 (Asselah *et al.*, 2021). Los síntomas de esta enfermedad pueden ser descritos como leves en la mayoría de las personas, aunque también puede causar malestares severos e incluso la muerte en otros (Mavrodiev *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2020). La cadena de infección del COVID-19, como la define el sector de salud pública, se refiere a la serie de etapas interconectadas, desde que un agente infeccioso sale de su

indirect transmission occurs by touching a surface contaminated by virus-containing secretions and then touching a portal of entry such as eyes, nose or mouth. Another form of COVID-19 transmission occurs when virus-containing droplets and aerosols are expelled from an infected person through speaking, breathing, coughing and sneezing (Prather *et al.*, 2020). The transmission chain begins when a symptomatic or asymptomatic infector or primary source infects one or several individuals (infectees) who are in proximity (Qian *et al.*, 2020; Wei *et al.*, 2020). This pattern is affected by the mobility of and exposure to symptomatic or asymptomatic infectors. Pre-symptomatic transmission occurs when the GI is shorter than the IP of the infector. According to Nishiura *et al.* (2020) the median SI is shorter than the median IP, suggesting a substantial proportion of pre-symptomatic transmission. In other study it was estimated that at least 50% of new SARS-CoV-2 infections originated from exposure to individuals with asymptomatic infection (Johansson *et al.*, 2021). For this reason, mitigation measures such as quarantines, social distancing, mask use, hand hygiene and strategic qPCR testing of people help reduce the risk of transmission, thus interrupt infection chains as early as possible.

The duration of the SI and GI of COVID-19 is estimated from contact-tracing data in a transmission chain from confirmed cases (Ganyani *et al.*, 2020; Ferretti *et al.*, 2020; Li *et al.* 2021; Mettler *et al.*, 2020; Ng *et al.*, 2021). Estimates suggest a SI mean of 7.5 days (95% CI: 5.3–19), GI mean of 3.95 days (95% CI: 3.01–4.91), and IP mean of 5.2 days (95% CI: 4.1–7.0) (Ganyani *et al.*, 2020; Li *et al.* 2020). In the transmission chain of COVID-19, the length of the SI is affected by the infector-infectee interaction, as the pair may include persons of different age and response to COVID-19 infection. For instance, it has been observed that while some people exhibit only very mild symptoms, others may express a highly severe syndrome or die.

hospedante y es transportado por algún mecanismo de transmisión hasta que ingresa a un nuevo hospedante susceptible y lo infecta. La cadena de infección de COVID-19 tiene una fase exponencial cuando hospedantes infectados y sanos se acercan a una distancia muy próxima entre ellos, lo cual favorece la transmisión directa o indirecta (Wu *et al.*, 2020). La transmisión directa puede ocurrir por medio de besos o por compartir cubiertos al comer, mientras que la transmisión indirecta ocurre al tocar una superficie contaminada con secreciones que contienen el virus y después tocar un portal de entrada al cuerpo, tal como los ojos, nariz o boca. Otra forma de transmisión del COVID-19 ocurre cuando gotículas y aerosoles que contienen el virus son expulsados de una persona infectada al hablar, respirar, toser o estornudar (Prather *et al.*, 2020). La cadena de transmisión comienza cuando un infector sintomático o asintomático, o una fuente primaria infecta a uno o varios individuos (infectados) que se encuentran en proximidad física (Qian *et al.*, 2020; Wei *et al.*, 2020). Este patrón se ve afectado por la movilidad de infectores sintomáticos o asintomáticos y la exposición a los mismos. La transmisión presintomática ocurre cuando el IG es más corto que el PI del infector. Según Nishiura *et al.* (2020), la mediana del IS es más breve que la del PI, lo cual sugiere una proporción importante de transmisión presintomática. En otro estudio se estimó que al menos 50% de las nuevas infecciones de SARS-CoV-2 se originaron de la exposición a individuos con infección asintomática (Johansson *et al.*, 2021). Por este motivo, las medidas de mitigación tales como la cuarentena, el distanciamiento social, el uso de cubrebocas, la higiene de manos y la realización estratégica de pruebas qPCR ayudan a reducir el riesgo de transmisión, y por ello a interrumpir cadenas de infección lo más temprano posible.

La duración del IS y el IG de COVID-19 se calcula del rastreo de datos de contacto en una cadena

**Citrus tristeza virus (CTV).** In plant disease epidemiology, the term “transmission chain” is not of common usage. Instead, the chain of infection of a disease is better referred to as the disease cycle, which refers to the different events that are conducive to disease in a portion of or in an entire plant population (Agrios, 2005). CTV is not transmitted by seed. Long-distance spread is mainly by transport of asymptomatic infected plant material by man. Thus, in newly established citrus orchards, the primary source of CTV inoculum is often the infected planted material. Once introduced into a citrus grove, short-range or local spread within orchards or groves is carried out by insect vectors (aphids). From infected trees, CTV is acquired by aphid populations that are responsible for secondary spread. Several species of aphids transmit CTV (Lee *et al.* 1994; Yokomi *et al.* 1994), of which *Aphis citricidus* (Syn. *Toxoptera citricida*) is the most efficient vector of CTV and transmits the virus in a semipersistent manner (Gottwald *et al.*, 1998; Dawson *et al.*, 2013). The acquisition requires a feeding period of 4-6 hours and aphids remain viruliferous for 24-48 hours without undergoing a latent period (Rocha-Peña *et al.*, 1994). The transmission chain of CTV can be simply described as: primary source/primary inoculum dispersion/first infected tree in an orchard → acquisition of the virus by an aviruliferous aphid → transmission of the virus by the aphid to a healthy tree → transmission to another healthy tree and → end of the transmission chain in 30 days with the end of the vector life cycle. Increase in the number of infective vectors in a population (increased secondary inoculum/transmission) → increase in the number of trees infected. In a transmission study conducted in the Yucatan Peninsula in Mexico, a transmission range of *A. citricidus* of 0 – 14.8% was estimated depending on the origin of the CTV isolates (Hernandez, 2013). The epidemiological

de transmisión de casos confirmados (Ganyani *et al.*, 2020; Ferretti *et al.*, 2020; Li *et al.* 2021; Mettler *et al.*, 2020; Ng *et al.*, 2021). Las estimaciones sugieren una media de IS de 7.5 días (95% CI: 5.3–19); para IG, una media de 3.95 días (95% CI: 3.01-4.91), y una media para PI de 5.2 días (95% CI: 4.1–7.0) (Ganyani *et al.*, 2020; Li *et al.* 2020). En la cadena de transmisión de COVID-19, la longitud del IS se ve afectada por la interacción infectador-infectado, ya que este par puede incluir a personas de diferentes edades y con diferentes respuestas a la infección por COVID-19. Por ejemplo, se ha observado que, mientras algunas personas solo presentan síntomas muy leves, otros pueden expresar un síndrome extremadamente severo o morir.

**Virus tristeza de los cítricos (VTC).** En la epidemiología de plantas, el término “cadena de transmisión” no es de uso común. En cambio, la cadena de infección de una enfermedad es mejor conocida como el ciclo de la enfermedad, lo cual se refiere a los diferentes eventos que conducen a la enfermedad en una porción o en la totalidad de una población de plantas (Agrios, 2005). El VTC no se transmite por semilla. Normalmente, la propagación a larga distancia es por el transporte de material vegetal infectado asintomático por humanos. Así, en huertos de cítricos recién establecidos, la fuente principal de inóculo de VTC suele ser el material vegetal infectado. Una vez introducido en un huerto de cítricos, la propagación local o de corto alcance dentro de huertos o plantaciones se lleva a cabo por insectos vectores (pulgones). A partir de árboles infectados, el VTC es adquirido por poblaciones de pulgones responsables de la propagación secundaria. Varias especies de pulgones transmiten VTC (Lee *et al.* 1994; Yokomi *et al.* 1994), de las cuales *Aphis citricidus* (Syn. *Toxoptera citricida*) es el vector más eficiente de VTC y transmite el virus de manera semipersistente (Gottwald *et al.*, 1998; Dawson *et*



implication of these biological characteristics is reflected in high rates of temporal dispersion of CTV in field conditions (Rivas-Valencia *et al.*, 2017). For example, in Mexico, the incidence of CTV diseased trees increased 40% in a period of four years. Dispersal of severe isolates is increased by *A. citricidus*, even in rootstocks considered tolerant to CTV (Rivas-Valencia *et al.*, 2020).

Usually, CTV has an incubation period that lasts for several years, as citrus trees decline suddenly years after infection (Fishman *et al.*, 1983). This is commonly called a chronic infection. The disease, in endemic regions is present in more than 90% of citrus producing trees in an asymptomatic condition (Mora-Aguilera, 2008; Mora-Aguilera *et al.*, 2005; Rivas-Valencia *et al.*, 2017). In order to detect trees infected with CTV (asymptomatic or symptomatic), plant tissue is sampled and serological (ELISA) or molecular (RT-PCR) diagnostic techniques are applied (Hughes and Gottwald, 1998; Huang *et al.*, 2004; Rosa *et al.*, 2007; Ruiz-Ruiz *et al.*, 2007; Korkmaz *et al.*, 2008; Saponari *et al.*, 2008). There are few studies on the incubation periods of CTV. Balaraman and Ramakrishnan (1979) experimentally determined that a 100% transmission of the virus was only achieved with at least 15 viruliferous *T. citricida* feeding on one plant and that the aphids required 24 h for each period of acquisition and transmission. The incubation period was reduced by 15-20 days when more than 100 aphids were feeding per plant. In another experiment, a decline isolate inoculated in sour orange seedlings remained for 51 days in the basal parts of the plants but was systemically distributed throughout the plant by 58 days post inoculation (Rocha-Peña *et al.*, 1994). Gottwald *et al.* (2002) determined that CTV inoculated either in the spring or in the fall in 2-3 year-old trees, remain serologically undetectable until the following spring or later. Even during

*al.*, 2013). La adquisición requiere de un período de prueba de 4-6 horas y los pulgones permanecen virulíferos por 24-48 horas sin atravesar un período de latencia (Rocha-Peña *et al.*, 1994). La cadena de transmisión de VTC puede ser descrita, simplemente, de la siguiente manera: fuente primaria/dispersión del inóculo primario/primer árbol infectado en un huerto → adquisición del virus por un pulgón avirulífero → transmisión del virus por el pulgón a un árbol sano → transmisión a otro árbol sano y → fin de la cadena de transmisión en 30 días con el fin del ciclo de vida del vector. Aumento en el número de vectores infecciosos en una población (aumento de inóculo secundario/transmisión) → aumento en el número de árboles infectados. En un estudio de transmisión realizado en la Península de Yucatán, en México, se estimó un rango de transmisión para *A. citricidus* de 0 – 14.8%, dependiendo del origen de los aislamientos de VTC (Hernández, 2013). La implicación epidemiológica de estas características biológicas se refleja en las altas tasas de dispersión temporal del VTC en condiciones de campo (Rivas-Valencia *et al.*, 2017). Por ejemplo, en México, la incidencia de árboles con VTC aumentó 40% en cuatro años. La dispersión de aislamientos severos aumenta gracias a *A. citricidus*, incluso en patrones considerados tolerantes a VTC (Rivas-Valencia *et al.*, 2020).

Normalmente, VTC tiene un período de incubación de varios años, a medida que los árboles de cítricos se deterioran de repente, años después de infectarse (Fishman *et al.*, 1983). Esto se llama comúnmente una infección crónica. La enfermedad, en regiones endémicas, está presente en más de 90% de los árboles de cítricos en condiciones asintomáticos (Mora-Aguilera, 2008; Mora-Aguilera *et al.*, 2005; Rivas-Valencia *et al.*, 2017). Para detectar árboles infectados con VTC (asintomáticos o sintomáticos), se toman muestras de tejido vegetal y se aplican técnicas de diagnóstico serológicas

the following spring only some of the trees may have detectable infections. They figured out that systemic movement of CTV occurs within a few weeks after inoculation, but the detection threshold (the amount of virus load) remained quite low. Therefore, there is a considerable variation in latent period between initial and systemic infection.

**Huanglongbing (HLB).** HLB is one of the most serious problems of citrus worldwide. HLB is caused by *Candidatus Liberibacter* spp., a fastidious phloem-restricted bacterium transmitted by leafhoppers, and is characterized by a long incubation period of three months to multiple years before symptoms are visible (Manjunath *et al.*, 2008; Flores-Sánchez *et al.*, 2017; Canale *et al.*, 2020). The Asian psyllid *Diaphorina citri* is the most efficient vector and transmits the pathogen in a circulative-propagative (persistent) transmission cycle (Manjunath *et al.*, 2008; Hall *et al.*, 2013; Torres-Pacheco *et al.*, 2013; Keremane *et al.*, 2015; Galdeano *et al.*, 2020). According to Canale *et al.* (2017), the psyllids were able to transmit the pathogen for up to 5 weeks after a 14-day acquisition access period as nymphs. The psyllid is capable of acquiring the pathogen after feeding for 15 to 30 minutes and remains infective throughout their life (3 to 4 months) (Hall *et al.*, 2013; Galdeano *et al.*, 2020); transovarian transmission has been reported only in the African psyllid *Trioza erytreae* (Manjunath *et al.*, 2008). Gottwald *et al.* (2008) analyzed the effect of contagion by psyllids at close range, on the global dispersal pattern of the disease over time, finding that the infection of trees occurs mainly by psyllids that come from contaminated tree blocks not close to uninfected trees, and not by psyllids from nearby orchards. Studies conducted in citrus orchards in Florida on the spatial distribution of HLB, evidenced the existence of two infection processes (Gottwald *et al.* 2008): a process of

(ELISA) o moleculares (RT-PCR) (Hughes y Gottwald, 1998; Huang *et al.*, 2004; Rosa *et al.*, 2007; Ruiz-Ruiz *et al.*, 2007; Korkmaz *et al.*, 2008; Saponari *et al.*, 2008). Existen pocos estudios sobre los períodos de incubación de VTC. Balaraman y Ramakrishnan (1979) determinaron experimentalmente que una transmisión del virus 100% efectiva solo se logró con al menos 15 *T. citricida* virulíferos que se alimentaron de una planta, y que los pulgones requirieron 24 h para cada período de adquisición y transmisión. El período de incubación se redujo 15-20 días cuando más de 100 pulgones se alimentaron de cada planta. En otro experimento, un aislamiento inoculado en plántulas de naranjo agrio permaneció por 51 días en las partes basales de las plantas, pero se distribuyó sistemáticamente por toda la planta a los 58 días después de la inoculación (Rocha-Peña *et al.*, 1994). Gottwald *et al.* (2002) determinaron que el VTC inoculado en la primavera o en el otoño en árboles de 2-3 años de edad permanece serológicamente indetectable hasta la siguiente primavera o más tarde. Incluso durante la siguiente primavera, solo algunos de los árboles podrían tener infecciones detectables. Los mismos autores encontraron que el movimiento sistémico de VTC ocurre en las semanas siguientes a la inoculación, pero que el umbral de detección (la cantidad de carga viral) permaneció bastante bajo. Por lo tanto, existe una variación considerable en el período de latencia entre la infección inicial y la sistémica.

**Huanglongbing (HLB).** HLB es uno de los problemas más importantes de los cítricos a nivel mundial. HLB es causado por *Candidatus Liberibacter* spp., una bacteria fastidiosa limitada al floema transmitida por chicharritas, y se caracteriza por tener un periodo de incubación que dura de 3 meses a varios años antes de que los síntomas sean visibles (Manjunath *et al.*, 2008; Flores-Sánchez *et al.*,

primary dispersion, where contagion occurs mainly by long-distance vector transmission, and another by local dispersion that occurs within the orchard. The authors concluded that the most devastating contagion is associated with vectors coming from long distances, regardless of local control carried out with insecticides, since psyllids fed the distant trees (detected as infected with CLAs) will continue to infect local orchards before dying from insecticide applications. The transmission chain of CLAs can simply be described as: primary source or first infected tree → acquisition of the bacterium by a non-infective *Diaphorina* → transmission to a healthy tree and so forth.

Several researchers have reported variable incubation periods for CLAs, from a few months to one or more years (Gottwald *et al.*, 1989; Gottwald, 2010; Canale *et al.*, 2020). It has also been reported that in younger orchards the pathogen has incubation periods from 6 to 12 months. In a study by Irey *et al.* (2006), RT-PCR detection revealed that 50% of infected trees were symptomatic and 50% asymptomatic. In practice it is assumed that there can be two to manyfold more asymptomatic infections already established compared to those that are visually symptomatic in a given orchard. Thus, visual detection of HLB is inadequate because it leads to an underestimation of disease amount (false negatives). Further, systemic distribution within trees is incomplete or diffuse making early detection by molecular techniques even more difficult (Gottwald *et al.*, 2008). This is the reason why CLAs is highly invasive when introduced to new areas, i.e., the disease is usually highly spatially dispersed regionally prior to symptom expression (owing to the prolonged incubation period).

The prolonged incubation period and a regional dispersal can make eradication efforts nonviable (Gottwald, 2010). Recently, the median latent period was estimated to be 16.8 and 17.8 days for

2017; Canale *et al.*, 2020). El psílido asiático *Diaphorina citri* es el vector más eficiente y transmite el patógeno en un ciclo de transmisión circulativo-propagativo (persistente) (Manjunath *et al.*, 2008; Hall *et al.*, 2013; Torres-Pacheco *et al.*, 2013; Kere-mané *et al.*, 2015; Galdeano *et al.*, 2020). De acuerdo con Canale *et al.* (2017), los psílicos pudieron transmitir el patógeno hasta por 5 semanas después de un periodo de acceso de adquisición de 14 días como ninfas. El psílido puede adquirir el patógeno después de alimentarse hasta por 15 a 30 minutos y permanece infectivo por el resto de su vida (3 a 4 meses) (Hall *et al.*, 2013; Galdeano *et al.*, 2020); la transmisión transovárica sólo ha sido reportada en el psílido africano *Trioza erytreae* (Manjunath *et al.*, 2008). Gottwald *et al.* (2008) analizaron el efecto del contagio por psílicos a cortas distancias sobre el patrón de dispersión global de la enfermedad en el tiempo, y encontraron que la infección de árboles ocurre principalmente por psílicos provenientes de bloques de árboles contaminados, no cercanos a árboles no infectados y no por psílicos de huertos cercanos. Estudios realizados en huertos de cítricos en Florida sobre la distribución espacial de HLB evidenciaron la existencia de dos procesos de infección (Gottwald *et al.* 2008): un proceso de dispersión primaria, donde el contagio ocurre principalmente por la transmisión de vectores a largas distancias, y otro, por dispersión local, que ocurre dentro del huerto. Los autores concluyeron que el contagio más devastador está relacionado con los vectores provenientes de largas distancias, independientemente del control local mediante insecticidas; dado que los psílicos se alimentan en árboles distantes (detectados como infectados con CLAs) continuarán infectando huertos locales antes de morir debido a las aplicaciones de insecticidas. La cadena de transmisión de CLAs se puede describir simplemente como: fuente primaria o primer árbol infectado → adquisición de la bacteria por una

nymphs and adults of the psyllids that acquired the pathogen, respectively (Canale *et al.*, 2017).

### **Estimation of the CTV and CLas serial and generation intervals and their distributions**

In the estimation of the SI and GI for COVID-19, infector-infectee pairs are normally constructed *ex post facto* from contact-tracing data of infected cases from official public records. Then, a number of transmission chains is determined from those data and the obtained measurements for SI are used to estimate the GI distribution using mathematical or statistical models through frequentist or Bayesian approaches (Li *et al.*, 2021; te Beest *et al.*, 2013). Estimation of the intervals for CTV and CLas can be more challenging because it should consider the indirect mode of pathogen acquisition and transmission by their mobile vectors and the sessile nature of the citrus trees. The latter condition can be advantageous for identification of infector-infectee tree pairs within orchards, however, provided the disease and vector population are monitored both spatially and temporally. An approach to pair assignment can be the examination of incidence maps of tristeza or HLB from periodic assessments, followed by spatial autocorrelation analysis of incidence data to determine the presence or absence of aggregation of diseased trees and, if aggregation is detected, its directionality and intensity too. The degree of spatial dependence indicated by the number of spatial lags with significant correlations ( $p < 0.05$ ) could be used to guide identification of trees in the incidence map as the possible infector-infectee pairs. Significant correlations at first, second or third order could be considered to account for the vector dispersal distance (Kobori *et al.*, 2011; Loxdale *et al.*, 1993) and the citrus row and tree spacing commonly used in commercial orchards. Monte Carlo simulation (an example is given in Table 1) and Markov-chain

*Diaphorina* no infectiva → transmisión a un árbol sano, y así sucesivamente.

Varios investigadores han reportado períodos variables de incubación para CLas, desde pocos meses hasta uno o varios años (Gottwald *et al.*, 1989; Gottwald, 2010; Canale *et al.*, 2020). También se ha observado que en los huertos más jóvenes el patógeno tiene períodos de incubación de entre 6 y 12 meses. En un estudio realizado por Irey *et al.* (2006), la detección de RT-PCR reveló que 50% de los árboles infectados eran sintomáticos y 50% asintomáticos. En la práctica se asume que puede haber dos o muchas veces más infecciones asintomáticas ya establecidas en comparación con aquellas que son visualmente sintomáticas en un huerto dado. Por ello, la detección visual de HLB es inadecuada porque conduce a subestimar la cantidad de enfermedad (falsos negativos). Además, la distribución sistémica dentro de los árboles es incompleta o difusa, lo que dificulta aún más la detección temprana mediante técnicas moleculares (Gottwald *et al.*, 2008). Esta es la explicación del por qué CLas es altamente invasivo cuando se introduce en áreas nuevas. Es decir, la enfermedad es normalmente muy dispersa espacialmente en la región antes de la expresión de síntomas (debido al largo período de incubación).

El prolongado período de incubación y una dispersión regional pueden hacer no viables los esfuerzos de erradicación (Gottwald, 2010). Recientemente se calculó la mediana del período de latencia en 16.8 y 17.8 días para las ninfas y los adultos de los psílidos que adquirieron el patógeno, respectivamente (Canale *et al.*, 2017).

### **Estimación de los intervalos serial y de generación en VTC y HLB y sus distribuciones**

En el cálculo del IS y el IG para COVID-19, los pares infector-infectado normalmente son creados *ex post facto* a partir de datos de rastreo de contacto de casos infectados de registros públicos oficiales.



**Table 1. Observed distances (m) between 12 HLB-diseased Persian lime trees and their four nearest neighbors in a 180-tree orchard, the estimated mean distances from 1000 randomly generated data using Monte Carlo simulation, and the estimated significance levels of the observed values.****Cuadro 1. Distancias observadas (m) entre 12 árboles de limón Persa enfermos deHLB y sus cuatro vecinos más cercanos en un huerto de 180 árboles, las distancias medias estimadas con 1000 datos generados de manera aleatoria usando la simulación Monte Carlo, y los niveles de significación estimados de los valores observados.**

| Distance (m)              | 1st nearest neighbor | 2nd nearest neighbor | 3rd nearest neighbor | 4th nearest neighbor |
|---------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Observed                  | 7.13                 | 9.78                 | 14.52                | 17.19                |
| Estimated Mean            | 7.1552               | 9.7746               | 14.5525              | 17.2107              |
| Significance <sup>z</sup> | 0.4961               | 0.5040               | 0.5001               | 0.4986               |

<sup>z</sup>The significance level for each  $i^{\text{th}}$  neighbor is the estimated probability of getting a value as high as the one observed, which is interpreted as the probability of a value as far as or farther from the mean of the simulated distribution. / <sup>z</sup>El nivel de significancia para cada  $i^{\text{er}}$  árbol vecino es la probabilidad estimada de obtener un valor tan alto como el observado, que es interpretado como la probabilidad de un valor tan lejos o más lejos que la media de la distribución simulada.

Data were obtained from an HLB study carried out in the north central region of Veracruz, Mexico from 2019 to 2020 (Dominguez *et al.*, unpublished) and data were simulated in R. / Los datos fueron obtenidos de un estudio de HLB realizado en la región norte-centro de Veracruz, México del 2019 al 2020 (Dominguez *et al.*, no publicado) y los datos se simularon en R.

Monte Carlo Methods can be used as an alternative to spatial autocorrelation to estimate randomness or lack thereof of diseased trees within an orchard. In the example provided in table 1, the observed distance between 12 diseased trees and their first nearest neighbor in a Persian lime orchard was 7.13, whereas the estimated distance from the randomization test (from 1000 simulations) was 7.1552. The difference was 0.0252. This means that the probability of a value as far as or farther than 7.13 is from 7.1552 is estimated as the proportion of the 1000 values that are 7.13 or less or 7.1804 (from  $7.1552 + 0.0252$ ) or more. There are 496 values this extreme, so the significance of the results is estimated 0.496. This suggest evidence that the arrangement of the diseased trees in the orchard was random. Markov-Chain Monte Carlo Methods can also be used directly to identify infector-infectee tree pairs. In addition, as long as the event independence assumption is met, conditional probability and Bayes' theorem can be used to estimate the probability that a given tree was the infector to its nearest first, second or third neighbor. Explicitly, the probability that a symptomatic

Luego se determina una cantidad de cadenas de transmisión a partir de esos datos y las mediciones obtenidas para el IS se usan para estimar la distribución del IG por medio de modelos matemáticos o estadísticos con enfoques frecuentistas o bayesianos (Li *et al.*, 2021; te Beest *et al.*, 2013). El cálculo de los intervalos para VTC y HLB puede ser más difícil porque debe de considerar el modo indirecto de adquisición y transmisión de patógenos por sus vectores móviles y la naturaleza sésil de los árboles de cítricos. Sin embargo, esta última condición puede ser ventajosa para identificar pares de árboles infectores-infectados dentro de los huertos, siempre y cuando la enfermedad y la población de vectores sean monitoreadas tanto espacial como temporalmente. Una forma de asignar pares puede ser examinando mapas de incidencia de la tristeza o HLB desde evaluaciones periódicas, seguido de análisis de autocorrelación espacial de datos de incidencia para determinar la presencia o ausencia de agregación de árboles enfermos y, de encontrarse agregación, determinar también su direccionalidad e intensidad. El grado de dependencia espacial indicado por la cantidad de ubicaciones espaciales

tree A be the infector of tree B given that B is its nearest neighbor [ $P(A|B)$ ] would be estimated by the probability of tree B being the infectee given that the symptomatic tree A is a primary source tree for infection to its closest neighbor [ $P(B|A)$ ], multiplied by the probability of B and divided by the probability of B. The equation form is:  $P(A|B) = [P(B|A) P(B)] / P(B)$ , where:  $P(A)$  is the probability of a symptomatic citrus tree A be a primary source tree or infector to its closest neighbor, and  $P(B)$  is the probability of a symptomatic tree B being the infectee by tree A assuming that it is its closest neighbor and was asymptomatic before A.

Distribution of the serial and generation interval of CTV and CLAS can be estimated with the observed SI data from the previous steps using similar approaches as those for COVID-19 (Lehtine *et al.*, 2021). Since the SI can take a continuum of values and be negative (shorter than the incubation period) then it requires a probability distribution model for a continuous random variable and that admits negative values. The lognormal, Gamma and Weibull distributions are suggested as variable distribution choices (cita). Following good-of-fit testing, the model can be used to obtain the confidence intervals (CI) associated to the mean of SI and GI. Approaches, such as Monte Carlo and Markov-Chain Monte Carlo with a desired number of simulations can be used to approximate a distribution and obtain the parameters of the proposed model. Last, a time-to-event approach can be an alternative to determine the time until a given asymptomatic tree starts showing symptoms in a flush during a predetermined period.

## DISCUSSION

Plant disease epidemiology has borrowed many useful terms, principles, and methodologies from human disease epidemiology. In this review

con correlaciones significativas ( $p < 0.05$ ) puede ser usado para guiar la identificación de los árboles en el mapa de incidencia como los posibles pares de infectores-infectados. Las correlaciones significativas de primer, segundo o tercer orden se podrían considerar como equivalentes a la distancia de dispersión de vectores (Kobori *et al.*, 2011; Loxdale *et al.*, 1993) y las hileras de cítricos y el espaciamiento entre árboles comúnmente usado en huertos comerciales. Los métodos de simulación Monte Carlo (un ejemplo del cual se da en el Cuadro 1) y de cadena Markov Monte Carlo pueden ser usados como alternativa a la autocorrelación espacial para estimar la aleatoriedad o ausencia de ésta en los árboles contagiados dentro de un huerto. En el ejemplo que se da en el Cuadro 1, la distancia observada entre 12 árboles contagiados y su vecino más cercano en un huerto de limón Persa fue de 7.13, mientras que la distancia estimada con la prueba de aleatorización (de 1000 simulaciones) fue de 7.1552. La diferencia fue de 0.0252. Esto significa que la probabilidad de que un valor diste tanto o más que 7.13 de 7.1552 se estima como la proporción de los 1000 valores que son de 7.13 ó menos ó 7.1804 (de  $7.1552 + 0.252$ ) o más. Existen 496 valores tan extremos como esto, por lo que la significancia de los resultados se estima en 0.496, lo cual sugiere que hay evidencia de que el arreglo de los árboles contagiados en el huerto fue aleatorio. Los métodos de cadena de Markov Monte Carlo también pueden ser usados para identificar pares de árboles infector-infectado. Además, siempre y cuando se cumpla la suposición de independencia de eventos, se pueden usar la probabilidad condicional y el teorema de Bayes para estimar la probabilidad de que un árbol específico haya sido el infector de su primero, segundo o tercer vecino más cercano. De manera explícita, la probabilidad de que un árbol sintomático A sea el infector del árbol B, dado que B es su vecino más cercano [ $P(A|B)$ ], se estimaría con la probabilidad de que el árbol B

the concepts serial interval (SI) and generation interval (GI), which have been instrumental in the characterization of the transmission (symptomatic and asymptomatic) dynamics of a human disease of global concern: the COVID-19, are discussed. To our knowledge, the concepts SI and GI have not been used, at least explicitly, in plant disease epidemiology.

Upon an understanding of what these concepts entail, the questions that stand are: i) Are these epidemiological measures useful to the understanding of plant disease epidemics – specifically, of diseases caused by viruses and phloem-limited pathogens, such as CTV and CLAs? and, If a “yes-answer” to this question holds, then ii) what would be some feasible and reliable approaches to field observation, experimentation and estimation of the distribution of those parameters? Like SARS-CoV-2, CTV and CLAs exhibit a pre-symptomatic transmission period during which trees can be already contagious (Gottwald *et al.*, 1999; Manjunath *et al.*, 2008; Canale *et al.*, 2020). The SI and from it the GI, can help elucidate this process, as it is based on symptom onset (which are easily observable) rather than on infection times (which are generally unknown). Both CTV and CLAs have a long incubation period that can take even years to be completed. Furthermore, the distribution of the pathogen in a tree is not perfectly systemic at the onset of infection, and the incubation period may vary with the age of the plants and region. All of these characteristics make the early detection of infected individuals in an orchard even more difficult. In reducing transmission and spread of these diseases, then, early detection of infected individuals is essential for implementation of mitigation measures such as control of vector populations or eradication of infected trees. Reliable detection must be carried out by serological techniques such as ELISA (CTV) or molecular techniques such as RT-PCR

sea el infectado, dado que el árbol sintomático A es la fuente primaria de infección a su vecino más cercano  $[P(B|A)]$ , multiplicado por la probabilidad de B y dividido por la probabilidad de B. La forma de la ecuación es la siguiente:  $P(A|B) = [P(B|A)P(B)] / P(B)$ , donde  $P(A)$  es la probabilidad de que el árbol cítrico A sintomático sea una fuente primaria o infectador de su vecino más cercano y  $P(B)$  es la probabilidad de que un árbol sintomático B sea infectado por el árbol A, asumiendo que es su vecino más cercano y que fue asintomático antes que A.

La distribución de los intervalos serial y generacional de VTC y HLB puede estimarse con los datos de IS observados de los pasos anteriores usando metodologías similares a las usadas para el COVID-19 (Lehtine *et al.*, 2021). Debido a que el IS puede tomar un continuo de valores y ser negativo (más corto que el periodo de incubación), entonces requiere un modelo de distribución probabilística para una variable aleatoria continua y que acepte valores negativos. Se sugieren las distribuciones lognormal, Gamma y Weibull como opciones de distribución (Ganyani *et al.*, 2020). Después de las pruebas de bondad de ajuste, el modelo puede ser usado para obtener los intervalos de confianza (IC) relacionados a la media de IS y IG. Metodologías como los de Monte Carlo y cadena de Markov Monte Carlo con un número deseado de simulaciones se pueden usar para aproximar una distribución y obtener los parámetros del modelo propuesto. Finalmente, el método de tiempo aun evento puede ser una alternativa para determinar el tiempo hasta que un árbol asintomático en particular comienza a mostrar síntomas en un nuevo brote foliar durante un período predeterminado.

## DISCUSIÓN

La epidemiología agrícola ha tomado muchos términos útiles, principios y metodologías de la

(CLas and CTV). Recently, use of dog olfactory detection was proven to be a rapid, reliable and cheaper detection tool than molecular methods. For example, detection of infected asymptomatic individuals using efficiently trained dogs was demonstrated for both COVID-19 (Grandjean *et al.*, 2020, 2021; Jendry *et al.*, 2020) and HLB (Gottwald *et al.*, 2020) as an efficient alternative to this problem. Early detection methods could help estimate the SI and GI. In estimation of the SI and GI intervals for CTV and CLas, several considerations and major assumptions should be made regarding the host crop, vector, environment, as well as management practices that could affect pathogen transmission.

It follows that both the SI and GI could be useful to advance understanding of epidemics of these diseases. Our review suggests that usage and application of these parameters offer both challenges and research opportunities in the epidemiology of CTV and CLas. The major challenge is the elucidation of the role of the vector in pathogen transmission and spread as it relates to the duration of the infection time, incubation period, SI and GI. On the other hand, it is extremely difficult to determine when a citrus tree gets infected. Determining infectivity and transmission would require experiments on artificial releases of insects, caging of trees, or tree protection through insecticide applications, as done for other vectored-diseases. This could be coupled with detection of infected vectors and trees using serological, molecular or even animal olfactory methods. In contrast to COVID-19 epidemics in which mobility of the host affects transmission, in CTV and CLas epidemics, the main host exhibits no dispersal or mobility. Therefore, there is less uncertainty and subjectivity in the assignation of infecting pairs than in the contact-tracing data used for SI estimation in humans. Another question is if

epidemiología humana. En esta revisión se discuten los conceptos de intervalo serial (IS) e intervalo de generación (IG), que han sido instrumentales en la caracterización de la dinámica de la transmisión (sintomática y asintomática) de una enfermedad humana de interés global: COVID-19. Hasta donde se tiene conocimiento, los conceptos de IS e IG no han sido usados, al menos de manera explícita, en la epidemiología agrícola.

Con el entendimiento de lo que implican estos conceptos, las preguntas que permanecen son las siguientes: i) ¿son útiles estas medidas epidemiológicas para comprender epidemias fitopatológicas? – específicamente de enfermedades causadas por virus y patógenos limitados al floema, tales como VTC y HLB. Y si la respuesta a esta pregunta es afirmativa, entonces ii) ¿Cuáles serían algunas metodologías factibles y confiables para la observación en campo, experimentación y estimación de la distribución de estos parámetros? Tal como el SARS-CoV-2, el VTC y HLB presentan una transmisión presintomática durante la cual los árboles ya pueden ser contagiosos (Gottwald *et al.*, 1999; Manjunath *et al.*, 2008; Canale *et al.*, 2020). El IS, y derivado de él, el IG puede ayudar a elucidar este proceso, ya que está basado en el inicio de los síntomas (que son fácilmente observables), en lugar de en tiempos de infección (que por lo general son desconocidos). Tanto el VTC como el HLB tienen un largo periodo de incubación que incluso puede tardar años en completarse. Además, la distribución del patógeno en un árbol no es perfectamente sistémica al inicio de la infección, y el periodo de incubación podría variar con la edad de las plantas y con la región. Todas estas características dificultan aún más la detección temprana de individuos infectados en un huerto. En la reducción de la transmisión y propagación de estas enfermedades, la detección temprana de individuos infectados es esencial para implementar medidas de mitigación



it is of any epidemiological relevance to define the SI and GI in the vector itself.

## CONCLUSIONS

This review has introduced to plant pathologists the serial and generation intervals: two key epidemiological measures that have been used in human epidemiology to characterize the transmission dynamics (especially the pre-symptomatic transmission or asymptomatic spread) of a human disease of global concern. Both the definition and approaches to estimate their distribution were presented, with emphasis in approaches for identification of infector-infectee tree pairs in a transmission chain within an orchard, and methodologies used to estimate means and CIs for COVID-19. Like in COVID-19, asymptomatic transmission of CTV and CLas has been a major problem to effective implementation of disease control measures, for example vector control and eradication. It is hoped that this review awakes interest in further examination of the SI and GI measures or pursuance of their use or adoption. These epidemiological parameters could help advance understanding of the epidemiology of diseases of quarantine importance in which detection must be followed by eradication of diseased individuals.

## LITERATURE CITED

- Agrios GN. 2005. Plant Pathology. Fifth ed. Academic Press. Burlington, Massachusetts, United States of America. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-02037-6>
- Asselah T, Durantel D, Pasmant E, Lau G and Schinazi RF. 2021. COVID-19: Discovery, diagnostics and drug development. *Journal of Hepatology* 74(1):168-184. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2020.09.031>
- Balaraman K and Ramakrishnan K. 1979. Transmission studies with strains of citrus tristeza virus on acid lime (*Citrus aurantifolia*). *Journal of Plant Diseases and Protection* 86: 653-661. Link: <https://www.jstor.org/stable/43214591?seq=1>

tales como el control de poblaciones de vectores o la erradicación de árboles infectados. La detección confiable se debe llevar a cabo por medio de técnicas serológicas tales como ELISA (para VTC) o técnicas moleculares tales como RT-PCR (para CLas y VTC). Recientemente, la detección por medio del olfato canino demostró ser una herramienta de detección más rápida, confiable y económica que los métodos moleculares. Por ejemplo, la detección de individuos asintomáticos infectados por medio de perros eficazmente entrenados fue demostrada, tanto para COVID-19 (Grandjean *et al.*, 2020, 2021; Jendryn *et al.*, 2020) como para HLB (Gottwald *et al.*, 2020) como una alternativa eficiente para este problema. Los métodos de detección temprana podrían ayudar a estimar los IS e IG. Al estimar los intervalos SI y GI para CTV y HLB, se deben hacer varias consideraciones y suposiciones importantes con respecto al cultivo hospedante, el vector, el ambiente, así como las prácticas de manejo que podrían afectar la transmisión del patógeno.

De ello se deduce que tanto el IS como el IG podrían ser útiles para conocer más sobre las epidemias de estas enfermedades. Nuestra revisión sugiere que el uso y aplicación de estos parámetros ofrece tanto retos como oportunidades de investigación en la epidemiología de VTC y HLB. El reto principal es la elucidación del papel del vector en la transmisión y propagación del patógeno en lo que se relaciona con la duración del tiempo de infección, el periodo de incubación, IS e IG. Por otro lado, es extremadamente difícil determinar cuándo se infecta un árbol de cítricos. Determinar la infectividad y transmisión requeriría de experimentos de liberación artificial de insectos, enjaulamiento de árboles o protección de árboles por medio de la aplicación de insecticidas, tal como se ha hecho para otras enfermedades diseminadas por vectores. Esto podría hacer juego con la detección de vectores y árboles infectados usando métodos serológicos, moleculares o incluso métodos de olfato

- Bové JM. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology* 88: 7-37. <http://dx.doi.org/10.4454/jpp.v88i1.828>
- Canale MC, Tomaseto AF, Haddad ML, Della Coletta-Filho H and Lopes JR. 2017. Latency and Persistence of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' in Its Psyllid Vector, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Phytopathology* 107: 264-272. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-16-0088-R>
- Canale MC, Komada KMA and Lopes JRS. 2020. Latency and incubation of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' in citrus after vector inoculation. *Tropical plant pathology* 45: 320-326. <https://doi.org/10.1007/s40858-019-00311-1>
- Dala-Paula BM, Plotto A, Bai J, Manthey JA, Baldwin EA, Ferrarezi RS and Gloria MBA. 2019. Effect of Huanglongbing or Greening Disease on Orange Juice Quality, a Review. *Frontiers in Plant Science* 9:1976. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01976>
- Dawson WO, Garnsey SM, Tatineni S, Folimonova SY, Harper SJ and Gowda S. 2013. *Citrus tristeza virus*-host interactions. *Frontiers in Microbiology* 4:88. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00088>
- Dawson WO, Bar-Joseph M, Garnsey SM and Moreno P. 2015. *Citrus tristeza virus*: making an ally from an enemy. *Annual Review of Phytopathology* 53: 137-55. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120012>
- Ferretti L, Wymant C, Kendall M, Zhao L, Nurtay A, Abeler-Dörner L, Parker M, Bonsall D and Fraser C. 2020. Quantifying SARS-CoV-2 transmission suggests epidemic control with digital contact tracing *Science* 368 (6491). <https://doi.org/10.1126/science.abb6936>
- Fishman S, Marcus R, Talpaz H, Bar-Joseph M, Oren Y, Salomon R and Zohar M. 1983. Epidemiological and economic models for spread and control of citrus tristeza virus disease. *Phytoparasitica* 11: 1. <https://doi.org/10.1007/BF02980710>
- Flores-Sánchez JL, Mora-Aguilera G, Loeza-Kuk E, López-Arroyo JJ, Gutiérrez-Espinosa MA, Domínguez-Monge S, Bassanezi RB, Acevedo-Sánchez G and Robles-García P. 2017. Diffusion model for describing the regional spread of Huanglongbing from first-reported outbreaks and basing an area wide disease management strategy. *Plant Disease* 101 (7): 1119-1127. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-16-0418-RE>
- Galdeano DM, de Souza Pacheco I, Alves GR, Moreira GL, Rashidi M, Turner D, Levy A and Machado MA. 2020. Friend or foe? Relationship between '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' and *Diaphorina citri*. *Tropical plant pathology* 45: 559-571. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00375-4>
- Ganyani T, Kremer C, Chen D, Torneri A, Faes C, Wallinga J and Hens N. 2020. Estimating the generation interval for COVID-19 based on symptom onset data. *MedRxiv* 2020.03.05.20031815. <https://doi.org/10.1101/2020.03.05.20031815>
- Gottwald TR, Aubert B and Zhao X-Y. 1989. Preliminary analysis of citrus greening (Huanglongbing) epidemics in the People's Republic of China and French Reunion Island. *Phytopathology* 79: 687-93. <http://dx.doi.org/10.1094/Phyto-79-687>

animal. En contraste con epidemias de COVID-19 en las que la movilidad del hospedante afecta la transmisión, en las epidemias de VTC y HLB, el hospedante principal no presenta dispersión ni movilidad. Por lo tanto, existe menos incertidumbre y subjetividad en la asignación de pares de infección que en los datos de rastreo de contactos usados para la estimación del IS en humanos. Otra pregunta es si es de relevancia epidemiológica definir los IS e IG en el vector mismo.

## CONCLUSIONES

Esta revisión ha presentado a fitopatólogos los intervalos serial y de generación, dos medidas epidemiológicas clave que han sido usados en la epidemiología humana para caracterizar las dinámicas de transmisión (especialmente la transmisión presintomática o la propagación asintomática) de una enfermedad humana de interés global. Se presentaron la definición y los enfoques para estimar la distribución de estos parámetros, con especial énfasis en las metodologías para identificar los pares de árboles infector-infectado en una cadena de transmisión dentro de un huerto, así como las metodologías usadas para estimar medias e intervalos de confianza para COVID-19. Al igual que en COVID-19, la transmisión asintomática de VTC y HLB ha sido un problema importante para la implementación efectiva de medidas de control de enfermedades como el control y la erradicación de vectores. Se espera que esta revisión despierte el interés en la realización de más análisis de las medidas del IS y el IG o la búsqueda de su uso o adopción. Estos parámetros epidemiológicos podrían ayudar a entender más sobre la epidemiología de enfermedades de importancia de cuarentenaria en las que la detección debe ser seguida de la erradicación de los individuos contagiados.

- Gottwald TR, da Graça JV and Bassanezi RB. 2007. Citrus Huanglongbing: The pathogen and its impact. Online. Plant Health Progress. <https://doi.org/10.1094/PHP-2007-0906-01-RV>
- Gottwald TR, Garnsey SM and Borbón J. 1998. Increase and patterns of spread of citrus tristeza virus infections in Costa Rica and the Dominican Republic in the presence of the brown citrus aphid, *Toxoptera citricida*. Phytopathology 88:621-636. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1998.88.7.621>
- Gottwald TR, Garnsey SM and Riley TD. 2002. Latency of Systemic Infection in Young Field-Grown Sweet Orange Trees Following Graft-Inoculation with *Citrus tristeza virus*. Fifteenth International Organization of Citrus Virologists Conference Proceedings (1957-2010) 15(15): 48-53. Link: <https://escholarship.org/uc/item/9rb677sf>
- Gottwald TR, Gibson GJ, Garnsey SM and Irey M. 1999. Examination of the effect of aphid vector population composition on the spatial dynamics of citrus tristeza virus spread by stochastic modeling. Phytopathology 89(7): 603-8. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.7.603>
- Gottwald T, Parnell S, Taylor E, Poole K, Hodge J, Ford A, Therrien L, Mayo S and Irey M. 2008. Within-tree spatial distribution of *Candidatus Liberibacter asiaticus*. Proceeding of the International Research Conference Huanglongbing, pp. 270-73. <http://www.plantmanagementnetwork.org/proceedings/irchlb/2008/>
- Gottwald TR. 2010. Current Epidemiological Understanding of Citrus Huanglongbing. Annual Review of Phytopathology 48: 119-39. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114418>
- Gottwald T, Poole K, McCollum T, Hall D, Hartung J, Bai J, Luo W, Posny D, Duan YP, Taylor E, da Graça J, Polek M, Louws F and Schneider W. 2020. Canine olfactory detection of a vectored phyto-bacterial pathogen, *Liberibacter asiaticus*, and integration with disease control. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 117(7): 3492-3501. <https://doi.org/10.1073/pnas.1914296117>
- Grandjean D, Sarkis R, Lecoq-Julien C, Benard A, Roger V, Levesque E, *et al.* 2020. Can the detection dog alert on COVID-19 positive persons by sniffing axillary sweat samples? A proof-of-concept study. PLoS ONE 15(12): e0243122. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243122>
- Grandjean D, Marzooqi DHA, Lecoq-Julien C, *et al.* 2021. Use Of Canine Olfactory Detection For COVID-19 Testing Study On U.A.E. Trained Detection Dog Sensitivity. bioRxiv 2021.01.20.427105. <https://doi.org/10.1101/2021.01.20.427105>
- Hall DG, Richardson ML, Ammar E and Halbert SE. 2013. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus huanglongbing disease. Entomologia Experimentalis et Applicata 146: 207-223. <https://doi.org/10.1111/eea.12025>
- Hernandez GA. 2013. Prevalencia de *Toxoptera citricida* y tasa de adquisición del *Citrus tristeza virus* en la Península de Yucatán. Tesis de maestría. Colegio de Postgraduados, México. Link: <https://www.repositorionacionalcti.mx/recursos/oai:colposdigital.colpos.mx:10521/2066>
- Huang Z, Rundell PA, Guan X and Powell CA. 2004. Detection and Isolate Differentiation of Citrus tristeza virus in Infected Field Trees Based on Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction. Plant Disease 88(6): 625-629. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.6.625>
- Hughes G, Gottwald TR. 1998. Survey methods for assessment of citrus tristeza virus incidence. Phytopathology 88: 715-723. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1998.88.7.715>
- Irey MS, Gast T and Gottwald TR. 2006. Comparison of visual assessment and polymerase chain reaction assay testing to estimate the incidence of the Huanglongbing pathogen in commercial Florida citrus. Proceedings of Florida State Horticultural Society 119:89-93
- Jendry, P., Schulz, C., Twele, F. *et al.* 2020. Scent dog identification of samples from COVID-19 patients – a pilot study. BMC Infectious Diseases 20: 536. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05281-3>
- Johansson MA, Quandelacy TM, Kada S, *et al.* 2021. SARS-CoV-2 Transmission from People Without COVID-19 Symptoms. JAMA Netw Open 4(1): e2035057. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.35057>
- Keremane ML, Ramadugu C, Rodriguez E, Kubota R, Shibata S, Hall DG, Roose ML, Jenkins D and Lee RF. 2015. A rapid field detection system for citrus huanglongbing associated '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' from the psyllid vector, *Diaphorina citri* Kuwayama and its implications in disease management. Crop Protection 68: 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.10.026>
- Kobori Y, Nakata T, Ohto Y and Takasu F. 2010. Dispersal of adult Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the vector of citrus greening disease, in artificial release experiments. Applied Entomology and Zoology. <https://doi.org/10.1007/s13355-010-0004-z>
- Korkmaz S, Cevik B, Onder S, Koc K and Bozan O. 2008. Detection of Citrus tristeza virus (CTV) from Satsuma Owari mandarins (*Citrus unshiu*) by direct tissue blot immunoassay (DTBIA), DAS-ELISA, and biological indexing. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 36: 239-246. <https://doi.org/10.1080/01140670809510240>
- Lee JA, Halbert SE, Dawson WO, Robertson CJ, Keesling JE and Singer BH. 2015. Asymptomatic spread of huanglongbing and implications for disease control. Proceedings of the National Academy of Sciences. 112: 7605-7610. <https://doi.org/10.1073/pnas.1508253112>
- Lee RF, Baker PS and Rocha-Peña MA. 1994. The *Citrus Tristeza Virus* (CTV). Intl. Inst. Biological Control, CAB International, Silwood Park, UK. 197 p.
- Lehtinen S, Ashcroft P and Bonhoeffer S. 2021. On the relationship between serial interval, infectiousness profile and generation time. Journal of the Royal Society Interface 18:20200756. <https://doi.org/10.1098/rsif.2020.0756>
- Leung KY, Trapman P and Britton T. 2018. Who is the infector? Epidemic models with symptomatic and asymptomatic cases. Mathematical Biosciences 301: 190-198. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2018.04.002>
- Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, *et al.* 2020. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. The New England Journal of Medicine 382(13): 1199-207. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>



- Li M, Liu K, Song Y, Wang M and Wu J. 2021. Serial Interval and Generation Interval for Imported and Local Infectors, Respectively, Estimated Using Reported Contact-Tracing Data of COVID-19 in China. *Frontiers in Public Health* 8: 577431. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.577431>
- Manjunath KL, Halbert SE, Ramadugu C, Webb S and Lee RF. 2008. Detection of 'Candidatus Liberibacter asiaticus' in *Diaphorina citri* and its importance in the management of citrus huanglongbing in Florida. *Phytopathology* 98(4): 387-396. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-4-0387>
- Mavrodiev EV, Turskly ML, Mavrodiev NE, Ebach MC and Williams DM. 2020. On classification and taxonomy of Coronaviruses (Riboviria, Nidovirales, Coronaviridae) with the special focus on severe acute respiratory syndrome related coronavirus 2 (SARS-Cov-2). <https://doi.org/10.1101/2020.10.17.343749>
- Mettler SK, Kim J and Maathuis MH. 2020. Diagnostic serial interval as a novel indicator for contact tracing effectiveness exemplified with the SARS-CoV-2/COVID-19 outbreak in South Korea. *International Journal of Infectious Diseases* 99: 346-351. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.07.068>
- Mora-Aguilera G, Ochoa-Martínez DL, Gutiérrez-Espinosa MA, Villegas MA, Álvarez-Ramos R, Jasso J, Góngora-Canul CC, Ruiz-García N, Rivas-Valencia P, Loeza-Kuk E, Palacios TC, Pérez Molphe-Bach E, Febres V, Moore G, Moreno P, Mendoza A and Quiroz J. 2005. *Citrus tristeza closterovirus*: consideraciones biológicas y epidemiológicas. pp. 1-25. In: *Memorias del IX Simposio Internacional de citricultura*. 19-23 abril. Cd. Victoria, Tamaulipas. México.
- Mora-Aguilera G. 2008. Bases de estudios epidemiológicos para el manejo de patosistemas agrícolas. Taller internacional de vigilancia epidemiológica fitosanitaria para el pronóstico de plaga. México. Link: [http://langif.uaslp.mx/documentos/presentaciones\\_internacional/01/drmora.pdf](http://langif.uaslp.mx/documentos/presentaciones_internacional/01/drmora.pdf)
- Moreno P, Ambros S, Albiach-Martí MR, Guerri J and Pena L. 2008. *Citrus tristeza virus*: a pathogen that changed the course of the citrus industry. *Molecular Plant Pathology* 9: 251-268. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00455.x>
- Ng SH, Kaur P, Kremer C, Tan WS, Tan AL, Hens N, Toh MP, Teow KL and Kannapiran P. 2021. Estimating transmission parameters for COVID-19 clusters by using symptom onset data, Singapore, January–April 2020. 27: 582-585. <https://doi.org/10.3201/eid2702.203018>
- Nishiura H, Linton NM and Akhmetzhanov AR. 2020. Serial interval of novel coronavirus (COVID-19) infections. *International Journal of Infectious Diseases* 93: 284-286. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.02.060>
- Prather KA, Wang CC and Schooley RT. 2020. Reducing transmission of SARS-CoV-2. *Science* 368(6498): 1422-1424. <https://doi.org/10.1126/science.abc6197>
- Qian G, Yang N, Ma AHY, Wang L, Li G, Chen X, et al. 2020. A COVID-19 Transmission within a family cluster by presymptomatic infectors in China. *Clinical Infectious Diseases* 71:861–2. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa316>
- Rimbaud L, Dallot S, Delaunay A, Borron S, Soubeyrand S, Thébaud G and Jacquot E. 2015. Assessing the Mismatch Between Incubation and Latent Periods for Vector-Borne Diseases: The Case of Sharka. *Phytopathology* 105(11): 1408-16. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-15-0014-R>
- Rivas-Valencia P, Loeza-Kuk E, Domínguez-Monge S and Lomas-Barrié CT. 2017. Infección crónica del virus de la tristeza de los cítricos en árboles de *Citrus sinensis*/C. *aurantium* en un régimen térmico restrictivo en Yucatán. *Revista Chapingo. Serie horticultura* 23(3): 188-202. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2016.11.028>
- Rivas-Valencia P, Domínguez-Monge S, Santillán-Mendoza R, Loeza-Kuk E, Pérez-Hernández O, Rodríguez-Quibarrera C and Lomas-Barrié C. 2020. Severe *Citrus tristeza virus* Isolates from Eastern Mexico Are Related to the T36 Genotype Group. *American Journal of Plant Sciences* 11: 1521-1532. <https://doi.org/10.4236/ajps.2020.1110110>
- Rocha-Peña MA, Lee RF, Lastra R, Niblett CL, Ochoa-Corona FM, Garnsey SM and Yokomi RK. 1994. Citrus Tristeza Virus and Its Aphid Vector *Toxoptera citricida*: Threats to Citrus Production in the Caribbean and Central and North America. *Plant Disease* 79(5): 437-444. <https://doi.org/10.1094/PD-79-0437>
- Rosa C, Polek M, Falk BW and Rowhani A. 2007. Improved Efficiency for Quantitative and Qualitative Indexing for Citrus tristeza virus and Citrus psorosis virus. *Plant Disease* 91(9): 1089-1095. <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-9-1089>
- Rothman KJ, Lash T and Greenland S. 2012. *Modern Epidemiology*, third ed. Lippincott Williams & Wilkins. ISBN: 9781451190052. 758 p.
- Ruiz-Ruiz S, Moreno P, Guerri J and Ambrós S. 2007. A real-time RT-PCR assay for detection and absolute quantitation of Citrus tristeza virus in different plant tissues. *Journal of Virological Methods* 145: 96-105. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2007.05.011>
- Saponari M, Manjunath K and Yokomi RK. 2008. Quantitative detection of Citrus tristeza virus in citrus and aphids by real-time reverse transcription-PCR (TaqMan). *Journal of Virological Methods* 147(1): 43-53. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2007.07.026>
- Sprenen TH, Baldwin J and Futch SH. 2014. An Economic Assessment of the Impact of Huanglongbing on Citrus Tree Plantings in Florida. *HortScience* 49(8): 1052-1055. Retrieved Feb 15, 2021, from <https://journals.ashs.org/hortsci/view/journals/hortsci/49/8/article-p1052.xml>
- te Beest DE, Wallinga J, Donker T and van Boven M. 2013. Estimating the generation interval of influenza A (H1N1) in a range of social settings. *Epidemiology* 24(2): 244-50. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e31827f50e8>
- Torres-Pacheco I, Lopez-Arroyo JI, Aguirre-Gómez JA, Guevara-González RG, Yanez-López R, Hernández-Zul MI and Quijano-Carranza JA. 2013. Potential distribution of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) vector of huanglongbing in Mexico. *Florida Entomologist* 96: 36-47 <https://doi.org/10.1653/024.096.0105>
- Wei W, Li Z, Chiew C, Yong S, Toh M and Lee V. 2020. Presymptomatic transmission of SARS-CoV-2—Singapore, January 23–March 16, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 69:411–5. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6914el>
- Wu Y, Chen C and Chan Y. 2020. The outbreak of COVID-19: An overview *Journal of Chinese Medical Association* 83: 217-220. <https://doi.org/10.1097/JCMA.0000000000000270>



Yokomi R, Lastra R, Stoetzel MB, Damsteegt VD, Lee RF, Garnsey SM, Gottwald TR, Rocha-Peña MA and Niblett CL. 1994. Establishment of the brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae) in Central America and the Caribbean basin and Transmission of citrus tristeza virus. *Journal of Economic Entomology* 87: 1078-1085. <https://doi.org/10.1093/jee/87.4.1078>