

Efecto tóxico del extracto acuoso de *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) sobre larvas de *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820 y *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae), en condiciones experimentales

Estrella Cárdenas Castro¹, Ligia Lugo Vargas², Alvaro Rozo Bautista¹

¹Universidad de La Salle, carrera 2, No. 10-70, Bogotá, Colombia.

²Universidad Santo Tomás, carrera 9, No. 51 11, Bogotá, Colombia.

Resumen

CÁRDENAS CASTRO E, LUGO VARGAS L, ROZO BAUTISTA A. 2010. Efecto tóxico del extracto acuoso de *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) sobre larvas de *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820 y *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae), en condiciones experimentales. ENTOMOTROPICA 25(1): 11-18.

Algunas plantas con propiedades insecticidas pueden explorarse como una alternativa para el control de mosquitos vectores de enfermedades y otras plagas. El objetivo fue evaluar la toxicidad del extracto acuoso de *Ruta graveolens* sobre larvas de cuarto instar de *Culex quinquefasciatus* y *Anopheles albimanus*. Se analizaron extractos acuosos de *R. graveolens* en concentraciones 50, 100, 300 y 500 mg/L. Se utilizaron 60 larvas y un control (20 larvas) por concentración. El tiempo de exposición de las larvas en cada concentración fue de 24 horas, a una temperatura de 28 ± 2 °C. La CL_{50} y CL_{95} se estimaron con la prueba Probit. La concentración 300 mg/L mostró efecto significativo en el porcentaje de mortalidad de las larvas; la cual fue del 98 % para *A. albimanus* y en *C. quinquefasciatus* estuvo entre el 86 % y 95 %. La CL_{50} para larvas de *A. albimanus* colonia Barranquilla fue de 143,79 mg/L; mientras que para la de Cartagena fue de 109,73 mg/L. Para larvas de *C. quinquefasciatus* colonia Sibate la CL_{50} fue de 148,79 mg/L; mientras que para la de Villavicencio fue de 209,91 mg/L. El extracto acuoso de *R. graveolens* mostró tener efecto tóxico para larvas de las dos especies de mosquitos, lo cual sugiere que esta planta podría ser una alternativa promisoriosa su control.

Palabras clave adicionales: control biológico, planta promisoriosa, vectores de enfermedades.

Abstract

CÁRDENAS CASTRO E, LUGO VARGAS L, ROZO BAUTISTA A. 2010. Toxic effect of *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) aqueous extract on *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820 and *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 larvae in experimental conditions. ENTOMOTROPICA 25(1): 11-18.

Some plants with insecticidal properties can be explored as an alternative for the control of mosquito-borne diseases and other pests. The objective was to evaluate the toxicity of aqueous extract of *Ruta graveolens* on *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles albimanus* larvae. The follow concentrations: 50 mg/L, 100 mg/L; 300 mg/L; and 500 mg/L of *R. graveolens* aqueous extract were analyzed. 60 larvae and a control (20 larvae) by concentration were utilized. The exposition time of the larvae was of 24 hours in each concentration, to a temperature of 28 ± 2 °C. The LC_{50} and LC_{95} were estimated with the test Probit. The concentration 300 mg/L showed significant effect in the percentage of mortality of the larvae; which was for *A. albimanus* of 98 % and for *C. quinquefasciatus* was between 86 % and 95 %. The CL_{50} for *A. albimanus* Barranquilla colony larvae was of 143.79 mg/L; while for Cartagena colony larvae was of 109.73 mg/L. The CL_{50} for *C. quinquefasciatus* Sibate colony larvae was of 148.79 mg/L; while for Villavicencio colony larvae was of 209.91 mg/L. The *R. graveolens* aqueous extract showed to have toxic effect for the two mosquito species, which suggests that this plant could be a promising alternative for the control

of mosquitoes.

Additional key words: biological control, promising plant, vectors of diseases.

Introducción

En ambos hemisferios, han sido encontradas cerca de 480 especies del género *Anopheles*; de las cuales aproximadamente 80 especies se reportan como vectores de malaria (Mouchet et al. 2008).

La especie *Anopheles albimanus* es vector efectivo de malaria. Tiene amplia distribución en la zona tropical de las Américas; se encuentra, desde la parte sur de Estados Unidos, Centro América, Islas del Caribe hasta la zona norte de Sur América (King 1937, Breeland 1972, Faran 1980). Los estadios inmaduros de esta especie se desarrollan muy bien en criaderos tipo piscina, lagos, lagunas, pantanos, acequias y arrozales. La actividad de las hembras adultas para alimentarse con sangre humana o de animales domésticos, empieza en el crepúsculo y termina hacia la medianoche (Frederickson 1993, González y Martínez 2006). En Colombia se han encontrado aproximadamente 45 especies de *Anopheles*; de las cuales, son consideradas vectores de malaria: *Anopheles albimanus*, *An. darlingi* y *An. nuneztovari* (SIVIGILA 2005). En cuanto a los departamentos en los cuales se ha encontrado mayor casuística de malaria, se señalan: Antioquia, Nariño, Córdoba, Choco, Meta, Guaviare y Putumayo (Zambrano 2006). *An. albimanus* es el vector principal de malaria en zonas rurales y periurbanas en los departamentos de la costa Pacífica y de la Costa Atlántica y en los municipios ubicados en los valles de la zona media del Río Magdalena y del Río Cauca (Olano et al. 2001).

La especie *Culex quinquefasciatus* se encuentra en regiones tropicales y subtropicales con amplio rango de distribución. Esta especie se ha relacionado con la transmisión de filarias (*Wuchereria bancrofti* y *Dirofilaria immitis*), del virus del Nilo Occidental y de los virus causantes

de la Encefalitis de San Luis y la Encefalitis Equina Venezolana (Savage y Miller 1995). Además del papel como vector de diferentes agentes patógenos, este mosquito provoca reacciones adversas como urticaria, dadas la picadura que generan en sus hospederos (Travi y Montoya 1994, Heinemann y Belkin 1978). En Colombia, *C. quinquefasciatus* se encuentra en la mayor parte del territorio nacional desde las zonas bajas costeras, llanos orientales, Amazonas y Chocó hasta las zonas altoandinas y está asociada con el hábitat humano en el área urbana y rural (Olano et al. 2001, Salazar y Moncada 2004). Es la especie de mosquito más común en la Sabana de Bogotá, y en algunas de sus áreas constituye un problema de salud pública debido a la alergia ocasionada por su picadura y a las molestias causadas por las altas densidades de población que alcanzan, como ocurre en el municipio de Sibaté (Salazar y Moncada 2004).

La utilización de insecticidas organosintéticos para controlar insectos vectores ha generado el desarrollo de resistencia en las poblaciones naturales de mosquitos; lo cual se ha visto reflejado en el resurgimiento de enfermedades transmitidas por estos insectos (Arnason et al. 1989, Brogdon y Mc Allister 1998). El control biológico se considera como una alternativa para minimizar poblaciones de insectos vectores o plagas y en el cual generalmente se utiliza un agente biológico con capacidad para reducir el tamaño de una población de tales insectos. Tal agente puede ser un depredador, un patógeno, un competidor o una toxina derivada de plantas o de microorganismos (Paulini et al. 1991).

Desde hace tiempo se han aislado de plantas, compuestos con propiedades insecticidas como la rotenona, aislada de las leguminosas *Derris elliptica* y *Lonchocarpus utilis*. La selección de una planta con capacidad de ser utilizada como insecticida natural requiere de ciertas condiciones: de fácil cultivo, con principios activos potentes, con alta estabilidad química

y de óptima producción (De Feo y Senatore 1993).

La especie *Ruta graveolens*, conocida comúnmente como ruda, contiene sustancias como la rutina y la inulina (Shah et al. 1988). Se han realizado estudios para analizar efecto nematocida de extractos de *R. graveolens* sobre nematodos que atacan raíces de plantas de cultivo (Sasanelli 1992, Sasanelli y D'Addaddo 1993, Sánchez-Ríos 2002); además, se ha reportado que las hojas y las flores contienen alcaloides y flavonoides con propiedades insecticidas y fungicidas (Hnatyszyn et al. 1975, Gros et al. 1985, Ulubelen y Teren 1988, Srivastava et al. 1998, Springob et al. 2000, Mancebo et al. 2001, De Mendonça et al. 2005, González et al. 2007).

La presente investigación procura contribuir al conocimiento de alternativas para el control de mosquitos; que sean amigables con el medio ambiente, utilizando especies vegetales con algunas propiedades insecticidas con el objeto de minimizar el uso de plaguicidas químicos.

Materiales y Métodos

Colecta y cría de Mosquitos. Se recolectaron adultos y larvas de *C. quinquefasciatus* procedentes de San Antonio, Villavicencio, Meta (lat 4°07'38,21"; long -73°31'09,34", altitud 341 m) y del embalse del Muña, Sibaté, Cundinamarca (lat 4°31'0,2"; long -74°15'05", altitud 2568 m) y se transportaron al laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud para su mantenimiento y colonización. Para la determinación de la especie del género *Culex* se realizaron observaciones de los especímenes bajo estereomicroscopio y se utilizaron las claves taxonómicas de Cova-García et al. (1966). Las colonias *An. albimanus* utilizadas en los ensayos se originaron de colecciones realizadas en Barranquilla y Cartagena, establecidas y mantenidas en el Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud desde 1978 y

determinadas con las claves taxonómicas de Cova-García y Sutil (1977).

Se utilizó una cámara climática Sherer cuyas condiciones ambientales fueron las siguientes: temperatura 28 ± 2 °C, humedad relativa 62 ± 5 %, y fotoperiodo 12:12 horas (luz/oscuridad) para el mantenimiento de las colonias de ambas especies. Los adultos se mantuvieron dentro de jaulas Gerber (polipropileno y angeo fino 30×30×30 cm, provista de una manga de muselina para introducir los mosquitos) y se les proporcionó glucosa al 30 % en motas de algodón. Para la alimentación de las hembras con sangre, se les colocó dentro de la misma jaula un ratón (*Mus musculus*, colonia ICR, Bioterio de Producción del Instituto Nacional de Salud), anestesiado con pentotal sódico (10 mg/kg de peso del animal), cada tercer día y por una hora. Para la oviposición se les proporcionó un recipiente de plástico (1000 ml) con 500 ml agua destilada. Las posturas fueron transferidas a bandejas plásticas (ancho 22×22 cm y alto 10 cm) para la cría de las larvas; las cuales se alimentaron con rodentina pulverizada.

Preparación del extracto vegetal. La planta fue obtenida en plazas mercados de Bogotá y se determinó taxonómicamente según Font Quer (1999). La preparación del extracto de *R. graveolens*, se realizó en el Laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Zootecnia de la Universidad de La Salle. Se pesaron tres kilos de *R. graveolens* en fresco (tallos, hojas y flores) y se dejaron secar al ambiente por quince días; posteriormente se pulverizaron en un molino eléctrico y luego se pasaron a través de un tamiz de tambor No. 200. Se pesaron 5 g del material tamizado y se colocaron en un vaso de precipitado (capacidad 2000 mL) y se completó a un litro con agua destilada para maceración a temperatura ambiente por 72 horas, con agitación constante, para extraer las sustancias hidrosolubles con propiedades insecticidas (piretrinas, rotenona y nicotina) contenidas en esta planta, según Gommers (1981) y Sánchez-

Cuadro 1. Efecto de un extracto acuoso de *Ruta graveolens* sobre larvas de *Anopheles albimanus* y *Culex quinquefasciatus* después de 24 horas de exposición. Larvas expuestas por concentración (n=60).

Especies	Concentraciones mg/l	No. Larvas muertas	% mortalidad
<i>Anopheles albimanus</i> (Colonia Barranquilla)	50	7	11,67
	100	22	36,67
	300	59	98,33
	500	60	100,00
	Control	0	0
<i>Anopheles albimanus</i> (Colonia Cartagena)	50	8	13,33
	100	35	58,33
	300	59	98,33
	500	60	100,00
	Control	0	0
<i>Culex quinquefasciatus</i> (Colonia Sibaté)	50	2	3,33
	100	28	46,66
	300	57	95,00
	500	59	98,33
	Control	0	0
<i>Culex quinquefasciatus</i> (Colonia Villavicencio)	50	7	11,67
	100	13	21,66
	300	52	86,66
	500	58	96,66
	Control	0	0

Ríos (2002). Con esta solución patrón (5 000 mg/L); se prepararon con agua destilada las siguientes concentraciones: 50, 100, 300 y 500 mg/L.

Ensayos. Los bioensayos se realizaron en el Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud, siguiendo el método de inmersión de la World Health Organization (WHO 1981), exponiendo las larvas de cuarto instar de *An. albimanus* y *C. quinquefasciatus* a concentraciones de extracto acuoso de *R. graveolens*. Se utilizaron vasos plásticos (6 cm alto × 8 cm diámetro), en tres recipientes se vertieron 100 ml de cada concentración. Para cada concentración se evaluó control con una repetición, en cuyo vaso se vertieron 100 ml de agua destilada. A continuación, se añadieron 20 larvas de cada especie en cada vaso. Por cada concentración se evaluaron cuatro concentraciones y tres repeticiones. Una vez sumergidas las larvas en cada concentración, se registró la mortalidad a las 24 horas después de

la exposición. El análisis de los datos se realizó por regresión simple con el método Probit (McCullagh y Nelder 1989) y se determinó la concentración letal cincuenta (CL₅₀) y la concentración letal noventa (CL₉₅).

Análisis estadístico. La estimación de las concentraciones letales discriminativas se hicieron por medio del modelo Probit (McCullagh y Nelder 1989) y la evaluación de la significancia estadística de los parámetros del modelo Probit se realizó con el test de Wald, según Cox y Hinkley (1974). La determinación de la concentración letal 50 (CL₅₀) y la concentración letal 95 (CL₉₅), así como sus respectivos intervalos de confianza al nivel del 95 % se realizó con la prueba estadística de Hosmer & Lemeshow (1989).

Resultados

En el Cuadro 1, se observa que la concentración 50mg/L produjo una mortalidad de larvas entre

Cuadro 2. Estimativos de los parámetros del modelo Probit para la mortalidad de larvas de *Anopheles albimanus* y *Culex quinquefasciatus*, ocasionada por el extracto acuoso de *Ruta graveolens*, después de 24 horas de exposición.

Especie	Parámetro	Estimativa	Error Estándar	Test	P-valor
<i>Anopheles albimanus</i> (Colonia Barranquilla)	β_0	-1,599	0,158	-10,09	<0,001
	β_1	0,011	0,001	9,20	<0,001
<i>Anopheles albimanus</i> (Colonia Cartagena)	β_0	-1,562	0,184	-8,472	<0,001
	β_1	0,014	0,002	6,626	<0,001
<i>Culex quinquefasciatus</i> (Colonia Sibaté)	β_0	-1,487	0,149	-9,916	<0,001
	β_1	0,001	0,001	9,465	<0,001
<i>Culex quinquefasciatus</i> (Colonia Villavicencio)	β_0	-1,880	0,172	-10,930	<0,001
	β_1	0,009	0,001	10,660	<0,001

el 11 % y el 13 % en *An. albimanus*; mientras que para larvas *C. quinquefasciatus* se observa una mortalidad entre el 3 % y el 11 %. La concentración 100 mg/L mostró una mortalidad entre el 36 % y 58 % para *An. albimanus*; mientras que para larvas *C. quinquefasciatus* se contempla una mortalidad entre el 21 % y el 46 %. Las concentraciones 300 mg/L y 500 mg/L mostraron mortalidades entre el 86 % y 100 % en larvas de ambas especies.

El Cuadro 2, muestra valores altos en el error estándar para el parámetro β_0 , lo cual demuestra alta variabilidad en los datos. Sin embargo, el test de significancia para el parámetro β_1 permite determinar que el extracto acuoso tuvo efecto positivo sobre la tasa de mortalidad de las larvas; dado que los valores de *P* fueron menores a 0,05; lo cual indica, que el extracto acuoso de *R. graveolens* tuvo efecto estadísticamente significativo sobre la mortalidad de las larvas de *An. albimanus* y *C. quinquefasciatus*.

En el cuadro 3, se percibe que las CL_{50} y CL_{95} presentaron valores más altos para larvas de *An. albimanus* colonia Barranquilla comparados con la colonia Cartagena; mientras que para larvas de *C. quinquefasciatus* las CL_{50} y CL_{95} presentaron valores más altos en larvas de la colonia Villavicencio comparados con la colonia Sibaté.

Discusión

El efecto tóxico de *Ruta graveolens* sobre insectos ha sido poco explorado; algunos autores (Hnatyszyn et al. 1975, Gros et al. 1985, Ulubelen y Teren, 1988, Srivastava et al. 1998, Springob et al. 2000, Mancebo et al. 2001, De Mendoca et al. 2005, González et al. 2007) han reportado que esta planta presenta propiedad antifúngica e insecticida. Aivazi y Vijayan (2010) ensayaron extractos de *R. graveolens* sobre larvas de *Anopheles stephensi* junto con cipermetrina y Jorge et al. (2009) ensayaron *R. graveolens* y otras plantas sobre *Pediculus humanus capitis* con resultados promisorios. Sin embargo, existe poca información sobre el efecto insecticida de esta planta como alternativa de control biológico de plagas.

En la presente investigación se realizaron bioensayos para determinar si el extracto acuoso de *R. graveolens* mostraba toxicidad sobre larvas de mosquitos; efecto que se observa en porcentajes de mortalidad en el Cuadro 1; además, el Cuadro 2 demuestra que fue significativo el efecto tóxico sobre larvas de *An. albimanus* y *C. quinquefasciatus*. El Cuadro 3, muestra valores altos para la CL_{50} y CL_{90} en mg/l, comparados con la $CL_{50} = 43,5$ ppm y $CL_{90} = 90,6$ ppm, obtenidos por Aivazi y Vijayan (2010) para larvas de *An. stephensi* y cuyos extractos se realizaron con éter de petróleo; esto

Cuadro 3. Concentraciones letales discriminativas del efecto de un extracto acuoso de *Ruta graveolens* sobre larvas de *Anopheles albimanus* y *Culex quinquefasciatus*.

Parámetros	Especies			
	<i>Anopheles albimanus</i> (Colonia Barranquilla)	<i>Anopheles albimanus</i> (Colonia Cartagena)	<i>Culex quinquefasciatus</i> (Colonia Sibaté)	<i>Culex quinquefasciatus</i> (Colonia Villavicencio)
CL ₅₀ (mg/l)	143,8	109,7	148,8	209,9
IC	125,7-161,8	93,6-125,8	130,1-167,5	188,6-231,1
CL ₉₅ (mg/l)	291,6	225,2	313,4	393,5
IC	253,2-329,9	184,5-265,9	273,1-353,7	352,4-434,6

CL₅₀= concentración letal 50, IC= Intervalo de Confianza a 95%, CL₉₅= concentración letal 95.

sugiere que los solventes no polares concentran mejor las sustancias larvicidas contenidas en *R. graveolens*; sin embargo, el extracto acuoso es económico y práctico de obtener en condiciones de campo.

Agradecimientos

A la Universidad de La Salle, Universidad Santo Tomas y al Instituto Nacional de Salud de Colombia por la financiación de la investigación.

A los evaluadores anónimos, quienes con sus sugerencias contribuyeron a aclarar y mejorar varios aspectos expuestos en este trabajo.

A la Dra. Luz Marina Rondón Poveda, por su asesoría en la parte estadística.

Al Laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Zootecnia de la Universidad de La Salle; por permitirnos realizar la preparación de los extractos.

A la profesional Betsy Bello Novoa, del Instituto Nacional de Salud; por su colaboración en la determinación del material entomológico de Villavicencio.

Al auxiliar de laboratorio John Muñoz, del Instituto Nacional de Salud; por su colaboración en el mantenimiento de las colonias de mosquitos.

Referencias

- AIVAZI AA, VIJAYAN VA. 2010. Efficacy of *Ruta graveolens* extract and its synergistic effect with cypermethrin against *Anopheles stephensi* Liston larvae. *Toxicological & Environmental Chemistry* 92(5): 893-901.
- ARNASON JT, PHILOGENE BJ, MORAND P. 1989. *Insecticides of plants origin*. American Chemical Society. Washington, DC. USA. 213 pp.
- BREELAND S. 1972. Studies on the ecology of *Anopheles albimanus*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 21: 751-754.
- BROGDON WG, McALLISTER JC. 1998. Insecticide resistance and vector control. *Emerging Infectious Diseases* 4: 605-13.
- COVA-GARCÍA P, SUTIL E, RASSEAU J. 1966. *Mosquitos (Culicinos) de Venezuela*. Publicaciones del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Caracas, Venezuela. 245 pp.
- COVA-GARCÍA P, SUTIL E. 1977. *Claves gráficas para la clasificación de anofelinos de Venezuela*. Publicaciones de la División de Endemias Rurales. Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental, MSAS. Maracay. Venezuela. 92 pp.
- COX DR, HINKLEY DV. 1974. *Theoretical Statistics*. Chapman and Hall, London. 511 pp.

- DE FEO V, SENATORE F. 1993. Medicinal plants and phytotherapy in the phytotherapy in the Amalfitan Coast, Salerno Province, Campania, Southern Italy. *Journal of Ethnopharmacology* 39:39-51.
- DE MENDONÇA FAC, DA SILVA KFS, DOS SANTOS KK, RIBEIRO KAL JÚNIOR, SANT'ANA AEG. 2005. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. *Fitoterapia* 76: 629-636.
- FARAN ME. 1980. Mosquito studies (Diptera, Culicidae). XXXIV. A revision of the Albimanus Section of the subgenus *Nyssorhynchus* of *Anopheles*. *American Entomological Institute, Contribution* 15(7):1-215.
- FONT QUER P. 1999. *Plantas Medicinales. El dioscórides renovado*. Editorial Labor Zaragoza, España. 1033 pp.
- FREDERICKSON E.C. 1993. *Bionomics and control of Anopheles albimanus*. Technical Paper 34. Pan American Health Organization. Washington, D.C., 76 pp.
- GONZALEZ J, BENAVIDES V, ROJAS R, PINO J. 2007. Efecto embriotóxico y teratogénico de *Ruta chalepensis* L. «ruda», en ratón (*Mus musculus*). *Revista Peruana de Biología* 13(3): 223-226.
- GONZÁLEZ R, CARREJO NS. 2009. *Introducción al estudio taxonómico de Anopheles de Colombia: claves y notas de distribución*. Editorial Universidad del Valle. Segunda edición. 260 pp.
- GONZÁLEZ R, MARTÍNEZ LM. 2006. Nuevo registro de distribución altitudinal de *Anopheles albimanus* Wiedemann (Diptera: Culicidae) en Colombia. *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle* 7(2):19-23.
- GROS GE, PAMILIO BA, SELDES MA, BURTON B. 1985. *Introducción al estudio de los productos naturales*. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Programa regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, DC.
- HEINEMANN SJ, BELKIN JN. 1978. Collection records of the project "Mosquitoes of Middle America" 12, Colombia. *Mosquito Systematics* 10: 493-539.
- HNATYSZYN O, ARENAS P, MORENO A, RONDITA R, COUSSIO JD. 1975. Plantas reguladoras de la fecundidad según la medicina folklórica. *Revista Científica del Paraguay* 14: 23-57.
- HOSMER DW, LEMESHOW S. 1989. *Applied Logistic Regression*. EUA. John Wiley, New York. p. 140-5.
- JORGE TCM, LENARTOVICZ V, ANDRADE MW, BONAFIN T, GIORDANI MA, BUENO NBC, DÉBORAH. SCHNEIDER DSLG. 2009. Pediculicidal Activity of Hydroethanolic Extracts of *Ruta graveolens*, *Melia azedarach* and *Sambucus australis*. *Latin American Journal of Pharmacy* 28(3): 457-459.
- KING WV. 1937. On the distribution of *Anopheles albimanus* and this occurrence in the United States. *Southern Medical Journal* 30(9): 943-946.
- MANCEBO F, HILJE L, MORA GA, CASTRO VH, SALAZAR R. 2001. Biological activity of *Ruta chalepensis* (Rutaceae) and *Sechium pittieri* (Cucurbitaceae) extracts on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Revista de Biología Tropical* 49: 501-508.
- MCCULLAGH P, NELDER JA. 1989. *Generalized Linear Models*. Volume 37 of Monographs on Statistics and Applied Probability. Chapman and Hall, London, second edition. 255 pp.
- MOUCHET J, CARNEVALE P, MANGUIN S. 2008. *Biodiversity of Malaria in the World*. John Libbey Eurotext, Paris. p. 16-18.
- OLANO V, BROCHERO H, SÁENZ R, QUIÑONES M, MOLINA J. 2001. Mapas preliminares de la distribución de *Anopheles* vectores de malaria en Colombia. *Biomédica* 1: 402-403.
- PAULINI H, POPP R, SCHIMMER O, RATKE O, RÔDER R. 1991. Isogravacridonchlorine: a potent and direct acting frameshift mutagen from roots of *Ruta graveolens*. *Planta Médica* 50: 59-61.
- SALAZAR MJ, MONCADA LI. 2004. Ciclo de vida de *Culex quinquefasciatus* Say, 1826 (Diptera: Culicidae) bajo condiciones no controladas en Bogotá. *Biomédica* 24: 385-392.

- SÁNCHEZ-RÍOS JL. 2002. Efectos de extractos de *Ruta graveolens* (Rutácea) sobre *Radopholus similes* e identificación de nemátodos asociados al cultivo de plátano *Musa spp.* [Tesis MSc.] Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Tecomán, Colima, México D.F. 97 pp.
- SASANELLI N, D'ADDABBO T. 1993. Potential application of the leaves of *Ruta graveolens* for controlling *Meloidogyne javanica* on sunflower. *Russian Journal of Nematology* 1: 117-120.
- SASANELLI N. 1992. Nematicidal activity of aqueous extract from leaves of *Ruta graveolens* on *Xiphinema index*. *Nematologia Mediterranea* 20:53-55.
- SAVAGE H, MILLER B. 1995. House mosquitoes of the U.S.A., *Culex pipiens* complex. *EUA. Wing Beats* 6: 8-9.
- SHAH AH, QURESHI S, AGEEL AM. 1988. Toxicity studies in mice of ethanol extract of *Foeniculum vulgare* fruit and *Ruta chalepensis*. *Phytochemistry* 27: 650-651.
- [SIVIGILA] SISTEMA DE VIGILANCIA EN SALUD PÚBLICA. 2005. *Semana epidemiológica N° 43*, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia.
- SPRINGOB K, LUKACIN R, ERWEIN C, GRÖNING I, MATERN U. 2000. Specificities of functionally expressed chalcone and acridone synthases from *Ruta graveolens*. *European Journal of Biochemistry* 267: 6552-6559.
- SRIVASTAVA SD, SRIVASTAVA SK, HALVE K. 1998. New coumarins and lemonoids of *Ruta graveolens*. *Fitoterapia* 69: 80-81.
- TRAVI B, MONTOYA J. 1994. *Manual de entomología médica para investigadores de América Latina*. Cali, Colombia: CIDEIM. p 90-142.
- ULUBELEN A, TEREN B. 1988. Alkaloids and coumarins from roots of *Ruta chalepensis*. *Phytochemistry* 27: 650-651.
- [WHO] WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1981. *Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides*. WHO/VBC/81.807. Geneva, Switzerland 6p.
- ZAMBRANO P. 2006. Informe final de malaria, semanas 1 a 52 Colombia, 2005. *Informe Quincenal Epidemiológico Nacional* 11(4): 49-53.