

PROSPEK PEMANFAATAN RADIASI DALAM PENGENDALIAN VEKTOR PENYAKIT DEMAM BERDARAH DENGUE

Siti Nurhayati

Puslitbang Keselamatan Radiasi dan Biomedika Nuklir – BATAN

- Jalan Cinere Pasar Jumat, Jakarta – 12440
- PO Box 7043 JKSKL, Jakarta – 12070

PENDAHULUAN

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) atau *Dengue Haemorrhagic Fever* (DHF) dapat bermanifestasi sebagai *Dengue Shock Syndrome* (DSS) yang merupakan suatu penyakit infeksi akibat virus dengue, ditularkan melalui gigitan vektor nyamuk *Aedes aegypti* (*A. Aegypti*). Infeksi virus dengue akan memberikan gejala bervariasi mulai dari sindroma virus nonspesifik sampai perdarahan akut. Sampai saat ini, dikenal empat tipe virus penyebab DBD yang termasuk dalam kelompok "Arthropod Borne Virus" atau arbovirus yaitu Dengue -1, Dengue-2, Dengue-3 dan Dengue-4. Keempat tipe ini telah ditemukan di berbagai daerah di Indonesia. Dari hasil penelitian Knippling dkk dikatakan bahwa Dengue-3 merupakan tipe yang paling luas penyebarannya dan sangat berkaitan dengan kasus yang paling berat disusul Dengue-2, Dengue-1 dan Dengue-4 [1].

A.aegypti adalah nyamuk (serangga) berukuran tubuh kecil, berwarna hitam, dan berbintik-bintik putih, dengan penyebaran hampir di seluruh wilayah Indonesia, kecuali di daerah dengan ketinggian lebih dari 1000 meter di atas permukaan laut [2]. Nyamuk betina akan terinfeksi virus dengue pada saat menghisap darah seseorang yang sedang dalam fase demam akut. Setelah melalui periode inkubasi ekstrinsik 8 sampai 10 hari, kelenjar ludah nyamuk bersangkutan akan terinfeksi dan virusnya akan ditularkan ketika nyamuk tersebut menggigit dan

mengeluarkan cairan ludahnya ke dalam luka gigitan ke tubuh orang lain. Setelah masa inkubasi di tubuh manusia selama 3-14 hari (rerata 4-6 hari) secara mendadak timbul gejala awal penyakit ditandai dengan demam, pusing, nyeri otot, hilang nafsu makan, dan berbagai tanda atau gejala non spesifik seperti mual, muntah dan ruam pada kulit.

Gejala demam dengue sangat tergantung pada umur penderita. Pada usia balita biasanya berupa demam, bahkan kejang disertai ruam makulopapular. Pada anak-anak yang lebih besar (di atas lima tahun) dan dewasa 9 di atas 15 tahun), dimulai dengan demam ringan atau demam tinggi ($>39^{\circ}\text{C}$) secara tiba-tiba dan berlangsung selama 2 – 7 hari. Demam dapat mencapai 40 – 41 $^{\circ}\text{C}$ disertai sakit kepala hebat, nyeri di belakang mata, nyeri sendi, nyeri otot, mual, muntah dan ruam-ruam. Bintik-bintik perdarahan di kulit sering terjadi, kadang kadang disertai bintik-bintik perdarahan di farings dan konjungtiva. Penderita juga sering mengeluh nyeri menelan, tidak enak di ulu hati, nyeri di tulang rusuk kanan dan nyeri seluruh perut.

Demam akut terjadi apabila virus sudah berada di dalam darah (*Viraemia*), biasanya muncul pada saat atau persis sebelum gejala awal penyakit tampak dan berlangsung selama kurang lebih lima hari setelah mengidap penyakit. Saat tersebut merupakan masa kritis dimana penderita dalam masa sangat infeksiif untuk vektor nyamuk yang berperan dalam siklus penularan (jika

penderita tidak terlindungi dari kemungkinan digigit nyamuk). Ini merupakan pola penularan virus dengue secara vertikal dari nyamuk betina yang terinfeksi ke generasi berikutnya. Hal ini merupakan mekanisme penting untuk mempertahankan hidup virus, namun tidak dalam kejadian luar biasa atau wabah.

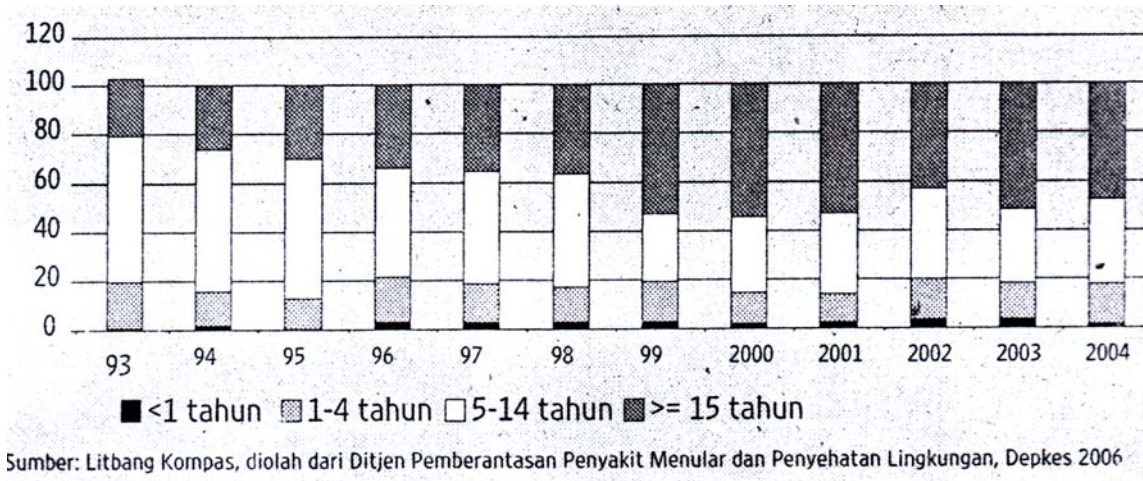
Secara garis besar penyakit DBD dapat digolongkan ke dalam empat stadium [1] yaitu:

1. Stadium I (ringan): ditandai dengan adanya demam tinggi mendadak selama dua sampai tujuh hari disertai dengan gejala klinis tidak khas disertai manifestasi perdarahan ringan yaitu uji tourniquet positif.
2. Stadium II (sedang): dengan gejala lebih berat dari stadium I, karena adanya perdarahan di kulit dan manifestasi perdarahan lain, yaitu epistaxis, perdarahan gusi, hematemesis dan atau melen. Gangguan aliran darah perifer ringan yaitu kulit teraba dingin dan lembab terutama pada ujung jari dan hidung.
3. Stadium III (berat): kegagalan sirkulasi ditandai dengan denyut nadi yang cepat dan lemah, menurunnya tekanan darah (20 mmHg atau kurang) atau hipotensi, ditandai dengan kulit dingin dan lembab serta pasien menjadi gelisah (pra syok).
4. Stadium IV: Syok berat dengan tidak terabanya denyut nadi maupun tekanan darah

yang tidak bisa diukur. Pada umumnya DBD menyerang anak balita tetapi dalam perkembangan selanjutnya proporsi penderita telah bergeser ke usia 15 tahun ke atas (Gambar 1).

Di Indonesia, jumlah penderita DBD cenderung semakin meningkat dan menyebar luas. Tahun 1968 pertama kali penyakit ini berjangkit di Jakarta dan Surabaya. Dua puluh tahun kemudian, DBD telah berjangkit di 201 Dati II di seluruh Indonesia. Data terakhir menyebutkan bahwa tinggal seperempat bagian wilayah Indonesia yang belum terkena DBD. Pada gambar 2 terlihat peningkatan jumlah penderita terjadi secara periodik tiap lima tahun, bahkan beberapa kali menyebabkan Kejadian Luar Biasa (KLB) dimana jumlah pasien yang terkena sangat banyak baik di perkotaan sampai ke pelosok pedesaan dengan angka kematian yang cukup tinggi yaitu 2-4%. Meskipun saat ini angka kematian menunjukkan penurunan, namun angka kesakitan (morbiditas) dan sebarannya masih tinggi [3].

Pasien DBD yang tidak tertolong disebabkan karena terlambat dibawa ke rumah sakit ataupun mendapatkan pertolongan. Selain itu, sampai saat ini belum ditemukan obat maupun vaksin yang dapat menyembuhkan penyakit DBD tersebut. Pertolongan yang



Gambar 1. Proporsi kasus DBD per golongan umur (tahun 1993 – 2004).

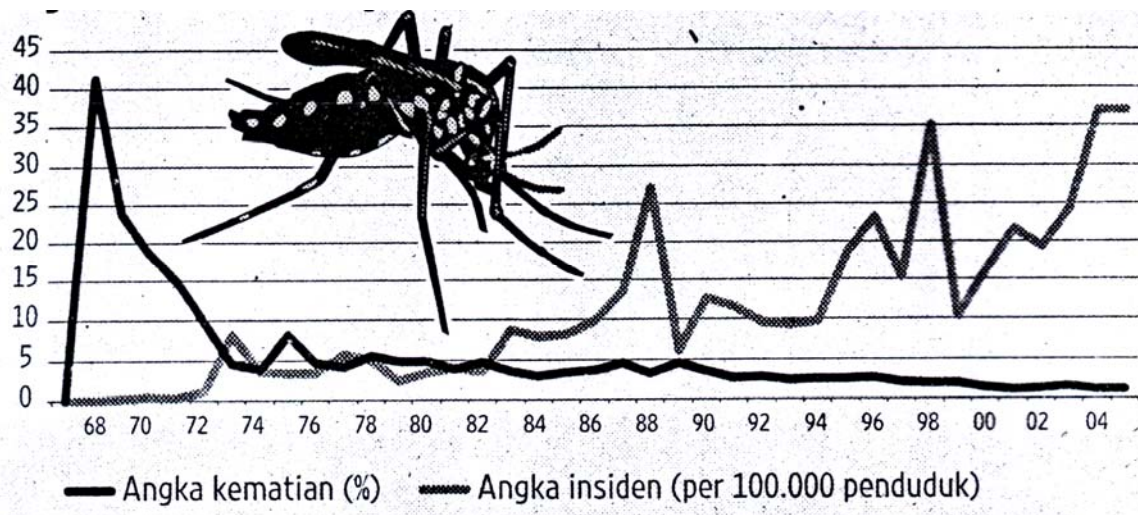
diberikan pada pasien adalah upaya untuk menurunkan demam atau panas dengan obat penurun demam atau panas, serta memberikan banyak minum atau infus agar tidak kehilangan cairan tubuh (dehidrasi). Disamping itu, dokter atau keluarga menjaga agar pasien tidak mengalami syok

DBD merupakan masalah kesehatan masyarakat di Indonesia yang belum dapat terpecahkan karena morbiditasnya (angka kesakitan) tinggi dan penyebaran yang semakin luas. Pengobatan spesifik terhadap penyakit DBD sampai saat ini belum ada, sehingga untuk pemberantasannya dilakukan dengan mengendalikan vektor nyamuk. Pemberantasan nyamuk *A. aegypti* dilakukan dengan menggunakan insektisida temefos 1% untuk stadium larva dan pengasapan (*fogging*) dengan malation 4% untuk nyamuk dewasa. Selain cara tersebut, dilakukan pengendalian lingkungan untuk meniadakan tempat perindukan nyamuk dengan melaksanakan "Pemberantasan Sarang Nyamuk" (PSN) secara lebih intensif (3M = Menguras, Menutup dan Mengubur). Namun demikian upaya ini belum memberikan hasil yang memadai karena jumlah kasus DBD masih tetap tinggi serta wilayah yang terjangkit juga semakin luas.

PENGENDALIAN SERANGGA SECARA KONVENSIONAL

Kecenderungan penyebaran penyakit DBD berkaitan erat dengan semakin meningkatnya kepadatan, sanitasi lingkungan yang buruk serta mobilitas penduduk yang tinggi, baik yang menggunakan sarana transportasi di dalam kota maupun antar daerah. Disamping itu banyaknya pembangunan perumahan baru juga memberikan tempat bagi berkembang biaknya nyamuk *A. aegypti*. Hasil survey yang dilakukan oleh Departemen Kesehatan di 9 kota, menunjukkan bahwa nyamuk *A.aegypti* ditemukan pada satu diantara tiga rumah atau tempat umum yang diperiksa. Tempat perindukan nyamuk ini yang paling potensial adalah tempat penampungan air seperti bak mandi/WC, tempayan, drum dan kaleng-kaleng bekas yang tidak terpakai [4].

Dalam pemberantasan penyakit DBD yang dilakukan oleh pemerintah saat ini adalah dengan cara membuat strata desa yaitu desa endemis dan non-endemis, intervensi yang dilakukan sesuai dengan strata tersebut [5]. Untuk desa endemis, kegiatan yang dilakukan adalah pemberantasan nyamuk dengan pengasapan masal yang dilakukan dalam 2 siklus, pemberantasan jentik dengan cara abatisasi selektif 4 kali setahun, dan



Gambar 2. Angka kematian dan angka insiden Demam berdarah di Indonesia dari tahun 1998-2005.

diadakan penyuluhan untuk masyarakat dengan pembentukan kader, pertemuan lintas sektoral dan juga pemutaran film. Untuk desa non-endemis, kegiatan yang dilakukan adalah pengamatan penderita dan partisipasi masyarakat dalam PSN yang merupakan kegiatan sangat murah sambil membudayakan hidup bersih. Selain itu dilakukan kegiatan *fogging* fokus untuk penanggulangan KLB di daerah endemis dan non endemis. Berbagai usaha tersebut ternyata belum menunjukkan hasil yang menggembirakan bahkan kasus DBD mempunyai kecenderungan terus meningkat setiap hari. Masih hangat dalam ingatan bahwa ribuan orang di tanah air tercinta ini terjangkit penyakit DBD, terutama anak-anak dan dewasa yang harus menanggung derita dan terpaksa dirawat secara darurat di lorong-lorong rumah sakit karena keterbatasan dayaampungnya. Oleh karena itu harus segera dilaksanakan teknik pengendalian baru yang dapat menyelesaikan permasalahan DBD. Pengendalian nyamuk/vektor dengan cara yang konvensional menggunakan insektisida dirasa kurang efektif karena dapat mengakibatkan matinya flora maupun fauna non target, serta timbulnya pencemaran lingkungan dan timbulnya resistensi terhadap insektisida tertentu, bahkan sering terjadi resistensi silang (*cross resistance*), sehingga mengurangi efektivitas pengendalian itu sendiri. Belum ditemukannya obat DBD sampai sekarang merupakan persoalan yang serius, terutama bagi negara berkembang sebagai wilayah endemik penyakit DBD seperti Indonesia. Karena upaya pengendalian DBD yang belum memberikan hasil memadai, maka diperlukan cara lain untuk membantu program pemberantasan vektor DBD, antara lain dengan Teknik Jantan Mandul.

RADIASI UNTUK PENGENDALIAN SERANGGA PENYEBAB DBD

Radiasi dapat dimanfaatkan untuk pengendalian vektor yaitu untuk membunuh secara langsung dengan teknik desinfestasi radiasi dan membunuh secara tidak langsung

yang lebih dikenal dengan Teknik Serangga Mandul (TSM), yaitu suatu teknik pengendalian vektor yang potensial, ramah lingkungan, efektif, spesies spesifik dan kompatibel dengan teknik lain. Prinsip dasar TSM sangat sederhana, yaitu membunuh serangga dengan serangga itu sendiri (*autocidal technique*). Teknik ini meliputi iradiasi terhadap koloni serangga vektor pada berbagai stadium dan kemudian secara periodik dilepas ke lapang (lingkungan) atau lokasi yang diperkirakan serangga vektor cukup potensial, tingkat kebolehjadian teknik ini dari perkawinan antara serangga mandul dan serangga fertil menjadi makin besar dari generasi pertama ke generasi berikutnya. Hal ini berakibat makin menurunnya prosentase fertilitas populasi serangga di lapangan yang secara teoritis terjadi pada generasi ke-4 atau ke-5 menjadi titik terendah dimana populasi serangga menjadi nol [5].

TJM atau Teknik Jantan Mandul merupakan teknik pemberantasan serangga dengan jalan memandulkan serangga jantan. Kemandulan adalah ketidakmampuan suatu organisme untuk menghasilkan keturunan. Gejala kemandulan akibat radiasi pada nyamuk jantan disebabkan karena terjadinya aspermia, inaktivasi sperma, mutasi letal dominan dan ketidakmampuan kawin.

Dasar teorinya adalah bila serangga betina hanya kawin satu kali dalam perkawinan tersebut dengan serangga jantan yang mandul, maka keturunan tidak akan terbentuk [6]. Serangga jantan mandul dilepas di lapangan dengan harapan bisa bersaing dengan jantan normal alam dalam berkopulasi dengan serangga betina. Serangga betina yang telah berkopulasi dengan jantan mandul dapat bertelur, tetapi telurnya tidak dapat menetas. Apabila pelepasan serangga jantan mandul dilakukan secara terus menerus, maka populasi serangga dilokasi pelepasan menjadi sangat rendah.

Dalam perkembangan selanjutnya TJM ini dikenal sebagai TSM karena berdasarkan pelaksanaan praktis untuk memisahkan serangga

vektor jantan dan betina yang akan diradiasi tidaklah mudah, sehingga serangga mandul yang diradiasi dan dilepas di lapangan tidak hanya jantan tetapi juga betina. Dengan pelepasan serangga betina mandul bersama-sama jantan mandul, maka diharapkan bahwa kemungkinan terjadinya perkawinan antara jantan fertil dengan betina fertil berkurang.

Pelaksanaan TSM dapat dilakukan dengan 2 metoda [7] yaitu :

1. Metoda yang meliputi pembiakan masal di laboratorium, pemandulan dan pelepasan serangga mandul ke lapangan.
2. Metoda pemandulan langsung terhadap serangga lapangan.

Metoda pertama menerangkan bahwa jika ke dalam suatu populasi serangga di lapangan dilepaskan serangga mandul, maka kemampuan populasi tersebut untuk berkembang biak akan menurun. Apabila nilai kemandulan serangga radiasi mencapai 100% dan daya saing kawinnya mencapai nilai 1.0 (sama dengan jantan normal) dan jumlah serangga radiasi yang dilepas sama dengan jumlah serangga normal (perbandingan 1:1), maka kemampuan berkembang biak populasi tersebut akan turun sebesar 50%. Jika perbandingan tersebut dinaikkan menjadi 9:1 (jumlah serangga radiasi yang dilepas 9 kali dari jumlah serangga lapangan), maka kemampuan populasi tersebut untuk berkembang biak akan turun sebesar 90%.

Metoda kedua, yaitu metoda tanpa pelepasan serangga yang dimandulkan. Metoda ini dilaksanakan dengan prinsip pemandulan langsung terhadap serangga lapangan yang dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa kemosterilan, baik pada jantan maupun betina. Dengan metoda kedua ini akan diperoleh dua macam pengaruh terhadap kemampuan kembangbiak populasi serangga. Kedua pengaruh tersebut adalah mandulnya sebagian serangga lapangan sebagai akibat langsung dari kemosterilan dan pengaruh berikutnya dari serangga yang telah mandul terhadap serangga sisanya yang masih fertil. Kemosterilan

merupakan senyawa kimia yang bersifat mutagenik dan karsinogenik pada hewan maupun manusia sehingga teknologi ini tidak direkomendasikan untuk pengendalian vektor.

Kelebihan dari teknik TSM [8] adalah:

- a) Bersifat selektif, artinya yang menjadi sasaran pengendalian hanya serangga vektor tersebut.
- b) Tidak merusak lingkungan.
- c) Tidak menimbulkan resistensi.
- d) Syarat-syarat yang biasa diperlukan pada pemberantasan secara biologi dengan menggunakan musuh alami tidak diperlukan lagi.

Tidak semua serangga dapat diberantas dengan Teknik Serangga Mandul. Supaya populasi serangga dapat dikendalikan menggunakan TSM, harus dipenuhi syarat-syarat sbb:

- a) Serangga betina tidak bersifat partenogenesis (berkembang dari telur yang dibuahi).
- b) Serangga (terutama jantan) harus mudah dikembangbiakan secara masal di luar habitat aslinya (laboratorium).
- c) Perlakuan pemandulan (dengan radiasi) tidak mengakibatkan kelainan fisiologis dan morfologis serta penurunan kemampuan kawin.
- d) Serangga betina sebaiknya kawin satu kali dan berumur lebih pendek dari serangga jantan. Bila serangga betina hanya kawin satu kali, maka betina normal yang sudah dikawini jantan mandul, tidak akan dikawini lagi oleh jantan normal dan tidak akan menghasilkan keturunan.
- e) Serangga jantan sebaiknya dapat kawin lebih dari satu kali dan berumur lebih panjang dari betina. Apabila serangga jantan umurnya panjang dan dapat kawin lebih dari satu kali, maka jantan-jantan yang sudah mandul dapat mengawini beberapa betina fertil di lapangan, sehingga penurunan populasi akan lebih besar.

f) Tersediannya informasi ekologi serangga sasaran di lokasi yang akan digunakan sebagai tempat pengendalian antara lain: tinggi dan fluktuasi populasi, penyebaran serta jarak terbang.

RADIASI UNTUK PEMANDULAN NYAMUK VEKTOR DBD

Salah satu cara pemandulan nyamuk vektor adalah dengan cara radiasi ionisasi yang dikenakan pada salah satu stadium perkembangannya. Radiasi untuk pemandulan ini dapat menggunakan sinar gamma, sinar X atau neutron, namun dari ketiga sinar tersebut yang umum digunakan adalah sinar gamma. Sinar gamma dapat berasal dari Cobalt-60 yang mempunyai waktu paruh 3,5 tahun atau cesium-137 dengan waktu paruh 30 tahun [9]. Untuk mendapatkan vektor mandul dengan radiasi secara teoritis dapat dilakukan pada stadium telur, larva, pupa atau dewasa. Hasil optimum dapat diperoleh dengan memilih stadium yang paling tepat untuk diradiasi. Stadium pupa merupakan stadium perkembangan dimana terjadi transformasi/perkembangan organ muda menjadi organ dewasa [10]. Pada stadium ini umumnya spermatogenesis dan oogenesis sedang berlangsung, sehingga dengan radiasi dosis rendah (65-70 Gy) sudah dapat menimbulkan kemandulan. Dari hasil penelitian kami tahun 2005 menunjukkan bahwa pada dosis 65 Gy yang dilakukan pada stadium pupa nyamuk *A. aegypti* sudah bisa memandulkan 98,53% dan 100% dengan radiasi 70 Gy. Umur pupa pada saat diradiasi memiliki kepekaan yang berbeda-beda, semakin tua, kepekaannya terhadap radiasi akan semakin menurun.

Radiasi ionisasi secara umum dapat menimbulkan berbagai akibat terhadap nyamuk vektor, baik kelainan morfologis maupun kerusakan genetik. Derajat kelainan atau kerusakan yang terjadi akibat radiasi ionisasi tergantung kepada berbagai faktor yaitu faktor teknik radiasi (macam sinar, cara pemberian dosis dan laju dosis), faktor lingkungan (suhu, atmosfer)

dan faktor biologi (perbedaan spesies dan variasi sel/jaringan [11]).

Gejala-gejala kemandulan akibat radiasi pada vektor jantan disebabkan karena terjadinya aspermia, inaktivasi sperma, mutasi letal dominan dan ketidakmampuan kawin. Selain digunakan dalam pemandulan vektor, teknik nuklir juga bisa digunakan sebagai penanda vektor. Karena radioisotop (seperti P^{32}) dapat memancarkan sinar radioaktif, sehingga dipakai sebagai penanda keberadaan nyamuk *A. aegypti* di lapangan.

Penandaan vektor dianggap penting terutama untuk mempelajari *bionomik* (interaksi organisme dengan lingkungan) nyamuk di lapangan, seperti mempelajari jarak terbang, pola pemencaran, umur nyamuk, pemilihan hospes, siklus *gonotrofi* (siklus pematangan sel gamet) dan aspek bionomik yang lain. Dengan demikian penandaan nyamuk *A. aegypti* dengan radioisotop dianggap sebagai cara penandaan paling tepat dan mudah, untuk mempelajari penyebaran dan jarak terbang nyamuk. Data ini sangat berguna untuk menunjang keberhasilan TSM dan penerapannya di lapangan.

Syarat keberhasilan penggunaan teknik serangga mandul [6] sebagai berikut:

- a) Kemampuan pemeliharaan serangga/vektor secara massal dengan biaya murah.
- b) Serangga vektor sebagai target pengendalian harus dapat menyebar ke dalam populasi sehingga dapat diperoleh serangga fertil di lapangan (alami) baik jantan maupun betina.
- c) Irradiasi harus tidak menimbulkan pengaruh negatif terhadap perilaku kawin dan umur vektor.
- d) Produksi sperma jantan irradiasi harus sama dengan produksi sperma jantan alam.
- e) Serangga vektor yang akan dikendalikan harus dalam populasi rendah atau harus dikendalikan dengan teknik lain agar cukup rendah sehingga cukup ekonomis untuk dikendalikan dengan TSM.

- f) Biaya pengendalian dengan teknik serangga mandul harus lebih murah bila dibanding dengan teknik konvensional.
- g) Perlu justifikasi yang kuat untuk penerapan biaya yang lebih tinggi dibandingkan dengan teknik konvensional apabila dengan TSM diperoleh keuntungan untuk perlindungan kesehatan dan lingkungan.

PENUTUP

Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa teknik nuklir sangat bermanfaat dalam pengendalian vektor penyakit Demam Berdarah Dengue dengan Teknik Serangga Mandul menggunakan cara irradiasi nyamuk menggunakan radiasi gamma pada stadium pupa dengan dosis antara 65-70Gy. Teknik pengendalian ini sangat spesifik, ramah lingkungan, tidak menimbulkan resistensi dan hanya berpengaruh pada spesies target saja. Hal ini sangat berlainan dengan pemberantasan vektor cara konvensional menggunakan pestisida yang akan berefek terhadap pencemaran lingkungan, timbulnya resistensi terhadap pestisida tertentu dan matinya hewan non target. TSM merupakan teknik pilihan yang sangat efektif dan efisien baik secara tersendiri maupun terintegrasi dengan teknik lain dan dalam pelaksanaannya TSM akan lebih baik bila dikombinasikan dengan pengendalian lain dalam sistem pengendalian vektor secara terpadu.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO, Prevention and Control of Dengue Haemorrhagic Fever, WHO Regional Publication. SEARO, No 29, 2003.
2. Sub Dit. Arbovirosis, Direktorat P3M, Depatemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. 1983.
3. KIRANA, N., Demam Berdarah, Akankah Berhenti, Harian Kompas 17 Januari 2006.
4. DEPARTEMEN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA. Petunjuk Teknis Penemuan, Pertolongan dan Pelaporan Penderita Penyakit Demam Berdarah Dengue, Dirjen PPM & PLP, 1992.

5. SUROSO, T., Demam Berdarah Dengue: Situasi, Masalah dan Program Pemberantasannya. Laporan Seminar Demam Berdarah Dengue, Jakarta, 8 Juni 1991, hal 9. Sub. Din Pencegahan Penyakit Dinkes Prop Dati I Jateng, 1995.
6. La-CHANGE, L.E., SCHMITH, C.H. and BUSHLAND, R.C., Radiation Induced Sterilization. Dalam: Kilgore, W.W. and Dout R.L. Pest Control : Biological, Physical and Selected Chemical Methods., hal 146-196. Academic Press, New York & London, 1967.
7. KNIPLING, E.F., Possibilities of Insect Control or Erradication Through the Use of Sexuality Sterile, *J. Econ.Entomol.* 48, 459 – 462, 1955.
8. WEIDHASS D.E., SCHMIDT C.H. and SEABROOK E.L., Field Studies on the Release of Sterile Males for Control of Cx. p. fatigans, *Mosquito News*, 22, 283-291, 1962.
9. WHITE, R.D., KAMASKI, H., RALSTON, D.F., HUTT, R.B and PETERSON, H.D.V. Longevity and Reproduction of Codling Moth Irradiated with Cobalt-60 or Cesium 137. *J. Econ. Entomol.* 65, 692 – 697, 1972.
10. HOPER, G.H.S., Competitiveness of Gamma Sterilized Males of the Mediteranean Fruit Fly : Effect of Irradiating Pupae or Adult Stage and of Irradiating Pupae in Nitrogen. *J. Econ. Entomol.*, 64, 464 – 368, 1976.
11. O'BRIENT R.D. and WOLF L.S., Radiation, radioactivity and Insect. Academic Press. New York – London, 1976.