

УДК 575.16:591.162

ЭКВИПОТЕНЦИАЛЬНОСТЬ ЗРЕЛЫХ ЯИЦ В ОВАРИОЛЕ ИМАГО ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

Н.Г. ЛЫСЕНКО, В.В. КЛИМЕНКО

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина
 Украина, 61077, Харьков, пл. Свободы, 4
 e-mail: stemway@gmail.com

Цель. Целью данной работы была оценка эквивалентности зрелых неоплодотворенных яиц имаго клонов тутового шелкопряда. **Методы.** В качестве интегрального критерия оценки потенциала развития яйца в зависимости от его положения в овариоле использовали степень развития серозной оболочки яйца после его активации холодowymi (-11°C , 30 мин) и тепловыми (46°C , 12, 15, 18, 21 и 24 мин) шоками, при этом контролем зрелости яйца служила его реакция на термоактивацию классическим методом термопартеногенеза по Астаурову (46°C , 18 мин). **Результаты.** В обоих подходах установлено отсутствие эквивалентности зрелых неоплодотворенных яиц, расположенных в разных участках вдоль овариолы от яичника к яйцекладу. Степень и характер выявленной неоднородности зрелых яиц зависят от генотипа клона и типа примененного воздействия. **Выводы.** Обнаруженная вариация зрелых ооцитов согласуется с введенным ранее понятием овогенетической изменчивости.

Ключевые слова: тутовый шелкопряд, изменчивость, оогенез, активация, партеногенез, клонирование, потенциал развития.

Введение. Шелководам хорошо известно, что осемененная утром бабочка тутового шелкопряда в нормальных условиях откладывает почти все содержащиеся в ней яйца (более 95%) в вечерние часы того же дня. Оплодотворенная грена второго дня откладки в промышленном шелководстве не используется, поскольку считается некачественной. В действительности только незначительная часть в грене второго дня откладки визуально может считаться дефектной; это более мелкие, обычно непигментированные и/или ссыхающиеся яйца. Когда в процессе приготовления зрелых неоплодотворенных яиц для термического партеногенеза [1] извлеченную из бабочек грену протирают на капроновой сетке и марле, натянутой на воронку, неполноценная грена неизбежно отделяется самой процедурой от полноценных зрелых яиц, которые после водного прогрева при 46°C в течение 18 мин пигментируются так же, как и при нормальном оплодотворении [2]. Большое количество одновременно созревающих неоплодотворенных яиц сделало тутового шелкопряда удобным объектом биологии развития, в частности партеногенетического клонирования.

Несколько лет назад было показано, что в случае трансплантации личиночных яичников самок клона в полость тела самцов развившиеся в овариолах ооциты, сохраняя внешние признаки сходства зрелых яиц, обнаруживают существенные различия в возникающем из них потомстве (трансплантационном клоне) по эмбриональной жизнеспособности, проявлению признаков, детер-

© Н.Г. ЛЫСЕНКО, В.В. КЛИМЕНКО, 2013

минируемых гетерозиготными локусами и т.п., в зависимости от положения ооцита по отношению к концам овариолы [3, 4]. Выявленная таким способом разнородность зрелых ооцитов вдоль овариол имплантированного яичника и связанная с ней изменчивость фенотипических признаков поставила нас перед необходимостью изучения эквивалентности зрелых ооцитов в норме, когда они развиваются без вмешательства экспериментатора. Отдельный интерес представляет изучение вклада выявленной овогенетической изменчивости в так называемый «онтогенетический шум», то есть стохастически обусловленную вариабельность признаков [3, 4].

Материалы и методы

В настоящей работе для изучения поставленных вопросов использованы партеноклоны лабораторной коллекции. Преимущество клонов, т.е. совокупности изогенных особей, перед любым генетически разнородным материалом представляется очевидным, поскольку позволяет исследовать изменчивость признака, детерминируемого выбранным генотипом при фиксированных параметрах внешних условий, включая синхронизацию развития особей клона. Помимо клональной репродукции искусственный партеногенез по Астаурову делает доступным изучение морфофизиологического потенциала яйца в отсутствие отцовского материала, привносимого в развитие оплодотворением и даже воздействием женского полового аппарата в процессе откладки яйца [4].

В каждом партеноклоне извлекали из имаго овариолы и разрезали их на четыре равные части (отрезка) для изучения вариации потенциала развития зрелых ооцитов в проксимально-дистальном направлении, т.е. в направлении от яичника к яйцекладу, или в отрезках овариолы: проксимальном, проксимально-медиальном, ме-

диально-дистальном и дистальном. В целой овариоле и отрезках, полученных от 10 и соответственно 40 бабочек одного клона, оценивали степень развития пигментации развивающихся партеногенетически яиц, подсчитывая яйца, пигментированные полностью, частично пигментированные и без пигментации. Использовали два варианта партеногенетической активации: промораживание при $-11\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин [5] и термоактивацию по Астаурову при $46\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 18, а также 12, 15, 21 и 24 мин. В случае спонтанного партеногенеза и криоактивации в яйце проходят мейотические деления, и тогда, если в генотипе клона окраска серозы яйца детерминирована гетерозиготным локусом, наблюдается пигментация разного цвета, например красная и темно-серая, как в клоне P(29×re)17, гетерозиготном по гену красной пигментации серозы re [6]. При термоактивации по Астаурову, на которой основано клонирование тутового шелкопряда, расщепления вообще не наблюдаются, поскольку стимулированное тепловым шоком развитие проходит неизменно с генотипом матери в соответствии с выпадением из мейоза редукционного деления и отсутствием кроссинговера у женского пола этого насекомого [1, 7]; в работе использованы клоны со способностью к амейотическому партеногенезу, близкой к 100%.

Результаты и обсуждение

В качестве оценки потенциала развития зрелого неоплодотворенного ооцита, извлеченного из овариол бабочки, использовали наличие и степень целостности его пигментированной серозной оболочки, возникающей из бластодермы к моменту ухода начавших развиваться яиц в диапаузу. В клоне P(29×re)17 грену, извлеченную из целых и разрезанных на четыре части (отрезка) овариол, активировали промораживанием, которое стимулирует мейо-

Таблица 1. Пигментация серозы активированных промораживанием яиц, извлеченных из целых и разрезанных овариол клона Р(29×re)17

Пигментация серозы яйца	Контроль овариолы, шт. (%)	Отрезки овариолы			
		1 шт. (%)	2 шт. (%)	3 шт. (%)	4 шт. (%)
Темно-серая	812 (44,9±1,2)	880 (34,8±0,9)	1037 (44,5±1,0)	1344 (47,7±0,9)	1023 (47,2±1,1)
Красная	695 (38,4±1,1)	897 (35,5±0,9)	881 (37,8±1,0)	1092 (39,3±0,9)	865 (39,9±1,0)
Мозаичная	12 (0,6±0,2)	39 (1,6±0,2)	22 (1,0±0,2)	33 (1,3±0,2)	18 (0,9±0,2)
Отсутствует	292 (16,1±0,9)	712 (28,2±0,9)	388 (16,7±0,8)	326 (11,7±0,6)	261 (12,0±0,7)
Яйца, шт.	1811	2528	2328	2775	2167
Контроль зрелости 46 °С, 18 мин	1308 (97,4±0,4)	1074 (98,3±0,4)	1337 (98,2±0,4)	1242 (98,5±0,3)	967 (98,4±0,4)

тический вариант развития и приводит к появлению красной и темно-серой пигментации яиц; яйца непигментированные соответствовали минимальной степени развития (табл. 1).

Из табл. 1 видно, что стимуляция мейотического партеногенеза наименее эффективна в проксимальном отрезке овариолы, здесь наблюдается больше всего яиц без пигментации, 28,2% (значимость различий дана отдельно, в табл. 3). Уменьшение способности к криоактивации выразилось на этом отрезке овариолы в уменьшении доли яиц темной пигментации на 10% по сравнению с контролем и проксимально-медиальным отрезком и на 13% в сравнении с двумя наиболее дистальными отрезками (3 и 4). В результате для проксимального отрезка соотношение темных и красных яиц оказывается ближе к теоретическому расщеплению 1:1, чем в любом из остальных вариантов. Некоторый избыток темных яиц характерен для мейотического партеногенеза, вызываемого промораживанием, и может быть связан либо с подавлением редукционного деления в некоторой части обработанных холодом яиц, либо со слиянием гаплоидного деривата первого направительно-го тельца со вторым полоцитом или

женским пронуклеусом [7]. В обоих случаях восстанавливается материнский генотип с характерной темно-серой пигментацией яйца, и мы можем предполагать наличие некоторых цитоплазматических особенностей яйца, которые однотипно формируются в ходе оогенеза, но никогда не бывают идентичными и, выходя за определенный генетически детерминированный порог, могут изменить ход зависящего от них процесса. На основании полученных данных мы можем предположить теперь, что ооплазма, благоприятствующая формированию материнского генотипа на этапе прохождения мейоза, характерна для ооцитов, занимающих проксимальную четверть овариолы. Контроль зрелости ооцитов с помощью термоактивации показывает при этом характерный для данного партеноклона одинаковый во всех вариантах уровень (последняя строка табл. 1). Указанные в табл. 1 незначительные примеси мозаичных, темно-красных яиц можно не учитывать в наших рассуждениях.

Опыт был повторен на клоне Рwг1, который гетерозиготен по генам w_2 и re белой и красной пигментации серозы. В соответствии с этим во всех пяти вариантах размещения яиц в овариолах увеличился процент непигментированных яиц, по-

Таблица 2. Пигментация серозы активированных промораживанием яиц, извлеченных из целых и разрезанных овариол клона Pwr1

Пигментация серозы яйца	Контроль овариолы, шт. (%)	Отрезки овариолы			
		1 шт. (%)	2 шт. (%)	3 шт. (%)	4 шт. (%)
Темно-серая	778 (31,4±0,9)	1041 (30,2±0,8)	1032 (33,1±0,8)	1282 (31,4±0,7)	797 (34,8±1,0)
Красная	699 (28,2±0,9)	1320 (28,1±0,8)	1076 (34,5±0,8)	1189 (29,0±0,7)	588 (25,7±0,9)
Отсутствует	996 (40,4±1,0)	1097 (41,7±0,8)	1013 (32,4±0,8)	1622 (39,6±0,8)	903 (39,5±1,0)
Яйца, шт.	2473	3458	3121	4093	2288
Контроль зрелости 46 °С, 18 мин	407 (97,5±0,8)	506 (94,7±1,0)	470 (97,2±0,8)	434 (95,8±1,0)	397 (91,7±1,4)

Таблица 3. Уровни значимости отличий по каждому из трех параметров пигментации (отсутствие, красная, темно-серая пигментация снизу вверх в ячейке), активированных промораживанием неоплодотворенных яиц из целой овариолы, и четырех ее отрезков в двух партеноклонах P(29×re)17 и Pwr1

		Pwr1					
		К	1	2	3	4	
P(29×re)17	К	–	–	–	–	≤0,02	Pwr1
		–	–	≤0,001	–	–	
		–	–	≤0,001	–	–	
	1	≤0,001	–	≤0,01	–	≤0,001	
		–	–	≤0,001	–	≤0,05	
		≤0,001	–	≤0,001	–	–	
2	–	≤0,001	–	–	–	–	
	–	–	–	≤0,001	≤0,001	–	
	–	≤0,001	–	≤0,001	≤0,001	–	
3	–	≤0,001	≤0,05	–	–	≤0,01	
	–	≤0,01	–	–	–	≤0,01	
	≤0,001	≤0,001	≤0,001	–	–	–	
4	–	≤0,001	–	–	–	–	
	–	≤0,01	–	–	–	–	
	≤0,001	≤0,001	≤0,001	–	–	–	
P(29×re)17							

сколькx к яйцам, не образовавшим ни темного, ни красного пигмента в серозе, в каждом варианте добавилась одна и та же доля яиц, в которых пигментация не обнаруживается визуально даже при наличии сформированной серозы из-за гена w_2 (табл. 2). В этом клоне наибольший про-

цент яиц без пигментации приходится также на первый отрезок овариолы; в соседнем отрезке этот процент наименьший из всех.

Уровень значимости различий по пигментации в разных отделах овариолы представлен в табл. 3. Как видим, во мно-

гих случаях обнаруживаются вполне значимые отличия в параметрах пигментации как между разными отрезками овариолы, так и при сравнении их с целой овариолой.

Данные по пигментации, полученные на клоне P(29×то)3 с помощью того же метода промораживания, заметно отличаются от данных для двух предыдущих клонов: здесь в первом и втором отрезках наблюдается наименьший процент непигментированных яиц, который заметно возрастает в дистальном направлении (табл. 4). Мы должны принять, что потенциал развития зрелого неоплодотворенного яйца, стимулированного к развитию воздействием низкой температуры (–11 °С в течение 30 мин) зависит не только от положения его в овариоле, но и от генотипа самки: в одних случаях он оказывается ближе к проксимальному, а в других – к дистальному концу овариолы. Изучение потенциала развития зрелого яйца в проксимально-дистальном направлении требует разбиения овариолы от имаго

разных клонов на более мелкие отрезки, вплоть до отдельных яиц. Важно отметить, что именно клональный синхронизированный материал, получаемый на тутовом шелкопряде, позволяет проводить подобные исследования, в результате которых при объяснении изменчивости любого признака, формирующегося в онтогенезе, станет необходимым учитывать разность потенциалов яиц, из которых сформировались группы с разными значениями изучаемого признака.

В качестве иного подхода к изучению потенциала развития зрелого неоплодотворенного яйца в зависимости от его положения в овариоле применили классический метод термоактивации по Астаурову [1], в котором варьировали время прогрева при 46 °С. Как и при использованной выше криоактивации, овариолы бабочек изучаемого клона делили на четыре части; затем из них извлекали яйца для прогрева в ультратермостате. Наиболее четкие результаты получены при сравнении клонов

Таблица 4. Пигментация серозы активированных промораживанием яиц, извлеченных из целых и разрезанных овариол клона P(29×то)3

Пигментация серозы яйца	Контроль овариолы, шт. (%)	Отрезки овариолы			
		1 шт. (%)	2 шт. (%)	3 шт. (%)	4 шт. (%)
Темно-серая	1560 (72,7±1,0)	1522 (86,1±0,8)	1745 (84,0±0,8)	704 (74,0±0,9)	1898 (69,6±0,9)
Отсутствует	586 (27,3±1,0)	246 (13,9±0,8)	333 (16,0±0,8)	626 (26,0±0,9)	829 (30,4±0,9)
Яйца, шт.	2146	1768	2078	2415	2727
Контроль зрелости, 46°, 18 мин	349 (95,7±1,0)	377 (97,9±0,7)	351 (97,7±0,6)	410 (96,3±0,8)	346 (95,7±0,8)
Достоверность различий					
	Контроль овариолы	отрезки овариолы			
		1	2	3	4
Контроль					
1	≤0,001				
2	≤0,001				
3		≤0,001	≤0,001		
4	≤0,02	≤0,001	≤0,001	≤0,001	



Рис. 1. Потенциал развития ооцитов, оцененный по целой овариоле и ее четырем участкам после теплового шока 46 °С 12 мин. а – P29 (в пробах по 550 яиц), б – P(29×mo)3 (в пробах по 400 яиц), в – Pwr1 (в пробах по 300 яиц в среднем), К – целая овариола

по результатам прогрева в течение 12 мин (рис. 1).

В контроле мы наблюдаем почти 100% пигментацию яиц клона P29 даже при использованной заведомо неоптимальной для полного термического партеногенеза температурной дозе 46 °С – 12 мин. Для дочернего клона P(29×mo)3 уровень пигментации на 15% ниже такового в клоне P29, но на 15% выше, чем в клоне Pwr1, где «крови» клона P29 еще в два раза меньше. Указанные различия статистически значимы при сравнении проб из соответствующих участков овариолы для партеноклонов P29 и P(29×mo)3, а также для P29 и Pwr1 ($p \leq 0,001$). Для партеноклонов P(29×mo)3 и Pwr1 потенциал развития ооцитов различен только для контрольных проб и проб из дистального отрезка овариолы ($p \leq 0,001$). Однако прогрев оптимальной температурной дозой 46 °С – 18 мин дает для последних двух клонов такую же близкую к 100% активацию, как и для P29. Это обстоятельство весьма важно в селекции партеноклонов-рекордистов, сравнимых с астауровским клоном P29, поскольку позволяет использовать прогрев в течение 12 мин для отбора генотипов самок с максимальным потенциалом развития. Для этого необходимо будет яйца одной бабочки делить на две пробы для прогрева одной – при 18 мин, а другой – при 12 мин.

Если потенциал развития ооцитов для P29 в разных участках овариолы одинаков, то этого нельзя сказать о двух других клонах: его падение на проксимально-медиальном участке характерно для обоих случаев, однако для P(29×mo)3 мы имеем затем подъем до максимальных значений на обоих концевых отрезках овариолы, а для Pwr1 – только на проксимальном (на дистальном потенциал развития снова падает). Поскольку различия между экстремальными значениями на отрезках овариолы статистически значимы, мы заключаем, что выявленные примененной дозой прогрева различия в потенциале развития ооцитов в зависимости от их положения в овариоле свидетельствуют об отсутствии эквипотенциальности зрелых яиц в имаго и о зависимости потенциала развития зрелого яйца как от генотипа самки, так и от положения яйца в овариоле.

При отличных от 12 мин неоптимальных экспозициях неоднородность зрелых яиц по их реакции на прогревы вполне согласуется с приведенными выше выводами. Бросается в глаза (рис. 2) совпадение в партеноклоне P29 всех оценок потенциала развития яиц в целой овариоле и ее частях, полученных с помощью неоптимальных температурных доз, с оценками потенциала развития в оптимальном варианте 46 °С – 18 мин, что, видимо, составляет характерную особенность этого замечательного партеногенотипа, выведенного Астауровым в результате многолетней селекции [2]; как результат мы видим слияние на графике всех четырех линий для разных экспозиций прогрева. Для клона P29, таким образом, неоптимальный прогрев в демонстрации неоднородности зрелых яиц по длине овариолы оказывается бесполезным, но зато еще раз подчеркивает уникальность этого продукта селекции. В клонах же P(29×mo)3 и Pwr1 статистически значимые различия потен-

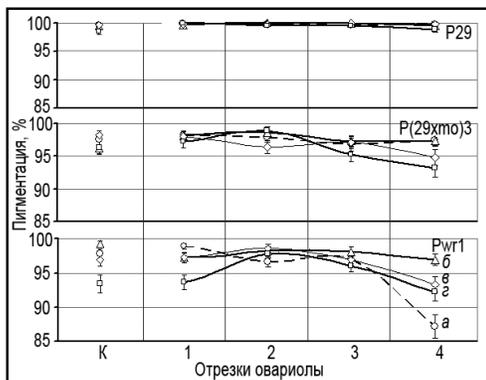


Рис. 2. Потенциал развития зрелого неоплодотворенного яйца в зависимости от положения в овариоле при разных экспозициях прогрева. Экспозиции при 46 °С: а – 15 минут, б – 18 мин, в – 24 мин. Количество яиц в пробах см. рис. 1. Использованы три клона: P29, P(29×mo)3, Pwr1

циала развития яиц в разных частях овариолы были выявлены; они тем более заметны, чем меньше «крови» клон P29 содержит рассматриваемый клон, и наиболее выражены в клоне Pwr1 (рис. 2).

Так, для экспозиций 15, 21 и 24 мин потенциал развития яйца в четвертом отрезке существенно ниже, чем в остальных трех ($p \leq 0,001$) отрезках, которые между собой по этому показателю не отличаются; при 24 мин отличия по потенциалу обнаруживаются еще и между отрезком 1 и отрезками 2 и 3 ($p \leq 0,001$). В клоне P(29×mo)3 на уровне значимости $p \leq 0,05$ выявляются различия в потенциале развития между отрезками 1 и 4 для 21 мин, а для 24 мин между отрезками 2 и 4 различия более значимы ($p \leq 0,01$).

Следует отметить, что подходы, использованные в настоящей работе для оценки потенциала развития зрелых яиц, оказались неприменимыми к клону P29: зрелые ооциты не отличались по способности к развитию по всей длине овариолы. Этим еще раз доказана уникальность его генотипа, полученная в результате длительной селекции, а полученные результа-

ты подсказали нам новый способ селекции по выведению подобных клонов-рекордистов в ближайшем будущем: отбор следует вести не только на фоне оптимальной температурной дозы партеногенеза, но и при достаточно сильных отклонениях от нее. Однако гетерогенность зрелых яиц партеноклона P29 показана нами в экспериментах на трансплантационных клонах [3], а также на клоне P5D с использованием неполно проявляющихся признаков [4], на основании которых нами было введено понятие овогенетической изменчивости.

Выводы

Полученные в настоящей работе результаты позволяют предполагать тонкие биохимические различия между ооцитами тутового шелкопряда, которые не одновременно, а последовательно заполняют формирующуюся яйцевую трубку и могут затем проявляться в форме фенотипической изменчивости, которую принимают исключительно за изменчивость случайную, стохастическую [9], но которая в действительности обусловлена закономерными овогенетическими отличиями между зрелыми ооцитами, одновременно возникающими в яичнике.

Список литературы

1. Астауров Б.Л. Искусственный партеногенез у тутового шелкопряда. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1940. – 240 с.
2. Астауров Б.Л. Отбор по способности к термическому искусственному партеногенезу и получение улучшенных по этому признаку партеноклонов у шелкопряда червя // Генетика. – 1973. – Т.9, №9. – С.93–106.
3. Zabelina V., Klymenko V. Ovary transplantation in the silkworm *Bombyx mori* L.: parthenocloning by eggs produced in male recipient // Sericologia. – 2008. – Issue 48, № 2. – P. 123–128.
4. Клименко В.В., Лысенко Н.Г. Онтогенетический шум и овогенетическая изменчивость // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: зб. наук. пр. – 2012. – Т.4. – С.89–94.

5. Терская Н.Р., Струнников В.А. Методы активации яиц тутового шелкопряда к мейотическому партеногенезу // Докл. АН СССР. – 1974. – Т.219, № 5. – С. 1238–1241.
6. Tazima Y. The silkworm: an important laboratory tool. – Tokyo: Kodansha Ltd. – 1978. – 308 p.
7. Клименко В.В., Спиридонова Т.Л. Элиминационный хроматин и искусственный партеногенез у тутового шелкопряда // Цитология. – 1979. – Т.21, № 7. – С. 793–799.
8. Клименко В.В., Спиридонова Т.Л. Трансплоидная комбинативная изменчивость при искусственном партеногенезе у тутового шелкопряда // Докл. АН СССР. – 1977. – Т. 236, № 3. – С. 740–743.
9. Klymenko V.V. Parthenogenesis and cloning in the silkworm *Bombyx mori* L.: problems and prospects // J. Insect Biotechnol. Sericology. – 2001. – V. 70. – P. 155–165.

Представлена Ю.В. Вагиным
Поступила 21.11.2012

ЕКВІПОТЕНЦІАЛЬНІСТЬ ЗРІЛИХ ЯЄЦЬ В ОВАРІОЛАХ ІМАГО ШОВКОВИЧНОГО ШОВКОПРЯДА

Н.Г. Лисенко, В.В. Клименко

Харківський національний університет
імені В.Н. Каразіна
Україна, 61077, Харків, пл. Свободи, 4
e-mail: stemway@gmail.com

Мета. Метою цієї роботи була оцінка еквіпотенціальності зрілих незапліднених яєць імаго клонів шовковичного шелкопряда. **Методи.** У якості інтегрального критерію для оцінки потенціалу розвитку яйця залежно від його положення в овариолі використовували ступінь розвитку серозної оболонки яйця після його активації холодним (–11 °С, 30 хв) та тепловими (46 °С, 12, 15, 18, 21 і 24 хв) шоками, при цьому зрілість яєць визначалась при термоактивації класичним методом термопартеногенезу за Астауровим (46 °С, 18 хв). **Результати.** Обидва методи виявляють відсутність еквіпотенціальності зрілих незапліднених яєць у різних части-

нах овариолі від яйчника до яйцекладу. Ступінь та характер виявленої неоднорідності зрілих яєць залежать від генотипу клону і типу застосованого впливу. **Висновки.** Виявлена варіація зрілих ооцитів узгоджується із введеним раніше поняттям овогенетичної мінливості.

Ключові слова: шовковичний шелкопряд, мінливість, оогенез, активація, партеногенез, клонування, потенціал розвитку.

EQUIPOTENTIALITY AMONG MATURE EGGS IN THE OVARIOLES OF SILKWORM IMAGO

N.G. Lysenko, V.V. Klymenko

V.N. Karazin Kharkiv National University
Ukraine, 61077, Kharkiv, Svobody Sq., 4
e-mail: stemway@gmail.com

Aim. The aim of this work was to evaluate the equipotentiality of mature unfertilized imago eggs in the silkworm clones. **Methods.** As an integral criterion for evaluation of the egg potential for development depending on its position in the ovariole were used the degree of serosa egg development after its activation by cold (–11 °C, 30 min) and heat (46 °C, 12, 15, 18, 21 and 24 min) shocks, with the control of egg maturity serving its response to the classical method of thermoparthenogenesis according to Astaurov (46 °C, 18 min). **Results.** Both approaches revealed the lack of equipotentiality in the mature unfertilized eggs arranged in different locations along the ovarioles from the ovary to the ovipositor. The extent and nature of heterogeneity identified among mature eggs depend on the clone genotype and the type of treatment applied. **Conclusions.** The observed variation among mature oocytes is consistent with the early proposed concept of oogenetic variability.

Key words: silkworm, variability, oogenesis, egg activation, parthenogenesis, cloning, developmental potential.