

## MODIFICATIONS DE CARACTÈRES RACIAUX DU CANARD PÉKIN PAR L'ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE DE CANARD KHAKI CAMPBELL ET LEUR TRANSMISSION À LA DESCENDANCE\*

J. BENOIT, P. LEROY, R. VENDRELY et C. VENDRELY

Laboratoire d'Histophysiologie, Collège de France, Paris et Centre de Recherches sur les  
Macromolécules du CNRS, Strasbourg

**Abstract**—Seven day-old Peking ducklings, subjected for a limited period to intra-peritoneal injection of a DNA extract from Khaki Campbell ducks, showed in their subsequent development marked phenotypic modifications compared with untreated specimens. These modifications affected the shape of head and body, attitude and weight of the animal, certain aspects of the plumage, and the pigmentation of the beak and feet.

The half-breeds obtained by crossing male Khaki  $\times$  modified females, or modified males Khaki  $\times$  females, differed in plumage from those obtained from crossing Khaki  $\times$  Peking or Peking  $\times$  Khaki.

The modifications observed on Peking ducks after injection were transmitted to the following generations, *F1*, *F2*, *F3*, and were carried no doubt by the sex cells, male as well as female.

The origin and nature of the subjects used for the injections, the origin, nature and number of control subjects, the particular type of experimental subject, the sum total of all these facts and the positive results obtained, enable us to state that the modifications observed in the injected specimens and transmitted to their offspring are indeed the result of the injections. The future will tell whether it will be possible to make the racial modifications so obtained permanent. This appears to be already highly probable to us, especially in respect of the rose colour characteristic of the beak.

As a result of our experiments, we have demonstrated two different effects of DNA: first on the injected subject itself, which can possibly be explained by a direct physiological action on the chain of processes leading finally to the complete development of the characteristics, and secondly, more indirect, acting on the progeny. The second effect can only be explained by a permanent and apparently stable modification of the hereditary patrimony.

### INTRODUCTION. MATÉRIEL DE RECHERCHE ET TECHNIQUE

Nous avons tenté d'obtenir, sur un vertébré supérieur, des "transformations" analogues à celles que réalisèrent divers auteurs sur des micro-organismes et ainsi de modifier certains caractères génétiques par l'injection d'acide désoxyribonucléique (ADN), d'une race à une autre race de la même espèce. Nous avons pensé rencontrer des circonstances favorables à notre essai en nous adressant à la

\* Ce Mémoire résume l'essentiel de nos publications antérieures (BENOIT, 1957 et BENOIT *et al.* 1957 a et b, 1958, 1959 a et b) et apporte quelques données nouvelles. C'est surtout l'aspect morphologique et physiologique du problème qui a été ici envisagé.

classe des oiseaux et, singulièrement, au canard domestique et à deux de ses races : Pékin et Khaki Campbell. Ces deux races ont l'avantage de présenter entre elles de nombreux caractères très différents, ainsi que le montre le Tableau 1.

### *Canetons traités*

Les canetons Pékin dont nous nous sommes servis et qui reçurent de l'ADN de canard Khaki Campbell provenaient d'un élevage dont les reproducteurs étaient tous de la souche Flamencourt, unanimement appréciée et reconnue comme une souche sélectionnée offrant le maximum de garanties. L'élevage auquel nous eûmes recours ne comportait que des canards Pékin, de souche Flamencourt. Il

TABLEAU 1

Caractères	Race Pékin	Race Khaki Campbell (issue du croisement : ♂ Rouen × ♀ Coureur Indien type chocolat)
Poids	3-4 kg	1,5-2 kg
Corps	massif	fin
Port	dressé (ventre traînant)	légèrement incliné
Tête	massive (joues saillantes)	fine
Plumage	blanc soufré bouffant	brun khaki, serré, compact
Bec	peau jaune-orange (caroténoïdes) rarement tachetée (mélanines)	peau ardoisée, plus ou moins foncée (mélanines)
Pattes et palmure	jaune orange	brunes

produisit, en 1956, 600 canetons Pékin, dont nous achetâmes 132, qui furent ainsi utilisés :

12 canetons (3 ♂ et 9 ♀) furent injectés d'ADN de Khaki ;

24 canetons (3 ♂ et 21 ♀) leur servirent de témoins ;\*

96 canetons furent destinés à d'autres expériences et tués à des âges variant entre 7 et 12 mois.

Ces 132 canetons répondaient, sans exception, au type standard du caneton Pékin. Chez aucun des sujets non traités (24 + 96), nés du même lot de reproducteurs sélectionnés, ne fut observée de déviation du type Pékin. En outre, une partie des 24 témoins produisit en 1958 et 1959, en reproduction pedigree, surveillée par nous dans notre ferme expérimentale de Gif-sur-Yvette, 853 canetons (dont 439 nés en consanguinité stricte ou mitigée, comme nous le mentionnons plus bas). D'autres Pékin, non témoins mais de la même souche, donnèrent pendant les mêmes dernières années, à Gif-sur-Yvette, 929 canetons. Or ces 1782 Pékin (853 + 929), issus de sujets Pékin non injectés et conservés pendant au moins 4 mois, n'exhibèrent d'autre phénotype que celui de la race Pékin, y compris les

\*Une erreur typographique convertit, par erreur, ce chiffre 24 en 42 dans notre Note du 27 avril 1959 à l'Académie des Sciences (BENOIT *et al.*, 1959).

sujets éprouvés expérimentalement, au cours de leur croissance, par une déficience alimentaire ou par un manque de soins.

Ajoutons encore que, bien que le renouvellement des reproducteurs de l'élevage auquel nous eûmes recours ait lieu tous les 2 ans et que les nouveaux sujets proviennent exclusivement de la souche sélectionnée Flamencourt, nous avons voulu répondre à l'objection d'une altération des individus par consanguinité, altération qui expliquerait l'apparition inattendue de nouveaux phénotypes. La mise en reproduction entre eux de sujets frères et soeurs ou demi-frères et demi-soeurs provenant, comme nos canards traités, de la même souche, a donné 439 canards dont aucun ne s'écarta du type Pékin originel; seule une différence dans la taille et le poids des animaux a été observée, les sujets consanguins étant parfois plus petits et ayant un poids légèrement inférieur à celui des sujets normaux.

Ces précisions constituent à nos yeux des arguments sérieux en faveur de la validité de notre matériel expérimental. Elles nous permettront de mieux apprécier la valeur des modifications importantes, que nous décrirons tout à l'heure, de 9 sur les 12 sujets que nous avons injectés d'ADN de Khaki.

#### *Préparation de l'ADN*

Des canards Khaki mâles furent tués au Laboratoire d'Histophysiologie du Collège de France à Paris. Leurs testicules et leur sang furent prélevés et envoyés, congelés, à Strasbourg, au Centre de Recherches sur les Macromolécules du CNRS, où l'ADN fut extrait par deux d'entre nous selon un procédé dont voici les manipulations essentielles.

Qu'il s'agisse des noyaux obtenus à partir des érythrocytes par lyse en présence de saponine (R. VENDRELY *et al.*, 1959) ou de broyat de testicule lavé à plusieurs reprises au sérum physiologique et centrifugé jusqu'à élimination la plus complète possible du matériel cytoplasmique, le processus chimique d'isolement de l'ADN comporte les temps suivants.

1. *Extraction de la nucléoprotéine.* Celle-ci est réalisée à basse température ( $+2^{\circ}\text{C}$ ) et en présence d'inhibiteur de désoxyribonucléase (FNa, 1,85 g/l.) par traitement du matériel nucléaire au moyen d'une solution 1 M de ClNa. La solution visqueuse obtenue est purifiée par centrifugation et la nucléoprotéine est précipitée en milieu salin à 0,14 M, puis redissoute. Ce traitement est répété un certain nombre de fois.

2. *Séparation de l'ADN du complexe nucléoprotéique.* Celle-ci est réalisée par deux contacts successifs d'une durée de 5 jours (à  $+2^{\circ}\text{C}$ ) avec une solution saturée en chlorure de sodium. Ce traitement dénature et insolubilise la protéine qui est éliminée par centrifugation. De la solution aqueuse ainsi obtenue, l'ADN est séparé par addition d'alcool. Le produit fibreux obtenu est séché rapidement par passage dans l'alcool, l'alcool-éther et l'éther.

Dans les expériences qui font l'objet de cette communication, divers échantillons ont été préparés à mesure des besoins, de telle sorte que leur durée de stockage s'est trouvée toujours réduite.

Les ADN obtenus finalement présentaient toujours l'aspect de longues fibres parfaitement blanches. La pureté chimique en était satisfaisante: teneur en phos-

phore 8,05 à 8,48%; rapport N/P, 1,62 à 1,69. Le degré de polymérisation répondait aux normes d'un bon produit: masse =  $5 \text{ à } 7 \times 10^6$ .

3. *Technique d'injection.* Envoyé de Strasbourg à Paris et conservé au frigidaire à  $+2^{\circ}\text{C}$  l'ADN fut dissous, pour l'emploi, dans du liquide de Tyrode et injecté dans la cavité abdominale des 12 canetons Pékin dont nous avons précédemment parlé. La première injection, de 1 mg d'ADN, fut faite le 28 juin 1956, à l'âge de 7 jours et suivie de quatre autres injections, de 1 mg également à 1 semaine d'intervalle. Après un repos de 1 mois, les femelles, et les femelles seulement, furent injectées de 4 mg/semaine pendant 14 semaines. Les 3 mâles reçurent donc chacun une dose totale de 5 mg, chacune des 9 femelles une dose de 61 mg.

### RÉSULTATS DES INJECTIONS

Nous avons engagé cette expérience-pilote dans la seule pensée de rechercher si, en première, ou même en deuxième ou troisième génération, certains caractères propres à la race Khaki n'apparaîtraient pas dans la descendance de nos sujets injectés. Aussi notre étonnement n'en fut-il que plus vif de constater, le 2 avril 1957, que la plupart de nos sujets injectés eux-mêmes présentaient, par rapport aux canards Pékin témoins, des modifications profondes de plusieurs de leurs caractères, concernant tant le corps et la tête en général que le bec et le plumage (Fig. 1).

#### *Modifications du corps et de la tête*

Un mâle sur 3, et 8 femelles sur 9, au lieu de présenter, comme dans la race Pékin, un corps lourd, massif et fortement dressé, l'abdomen touchant presque le sol, avaient un corps plus léger de 1 kg environ, fin et horizontal ou peu incliné. l'abdomen restant éloigné du sol. Au lieu d'être globuleuse, à joues saillantes, leur tête était fine, à joues peu accentuées. Par ces caractères, nos sujets ressemblaient plus à des canards Khaki qu'à des canards Pékin.

#### *Modifications du plumage*

Alors que la disposition et la forme des plumes donnent au plumage de la race Pékin un aspect "bouffant", le plumage de nos 9 sujets "modifiés" était d'aspect lisse, serré et compact, comme c'est le cas chez le Khaki. En revanche, ce plumage ne présentait aucunement la pigmentation foncée caractéristique du Khaki. Il se distinguait cependant de celui du Pékin blanc soufré, par sa couleur entièrement blanche, d'un blanc de neige. Cet aspect persista pendant plusieurs mois, mais, lors de la mue automnale de 1957, le plumage devint partiellement soufré.

#### *Modifications du bec*

Sans détailler ici certaines modifications de la forme du bec, ce qui nous entraînerait trop loin, nous mentionnerons deux caractères frappants que nous observâmes chez quelques femelles injectées.

(a) *Pigmentation noire.* La peau du bec de 5 de nos femelles injectées présentait une mélanisation accentuée, distribuée en taches arrondies ou en plages plus étendues, en partant de la racine du bec. Cette pigmentation s'accrut avec le temps chez toutes les femelles injectées, au point d'être actuellement, chez 6 d'entre elles, presque aussi complète que chez les canes Khaki.

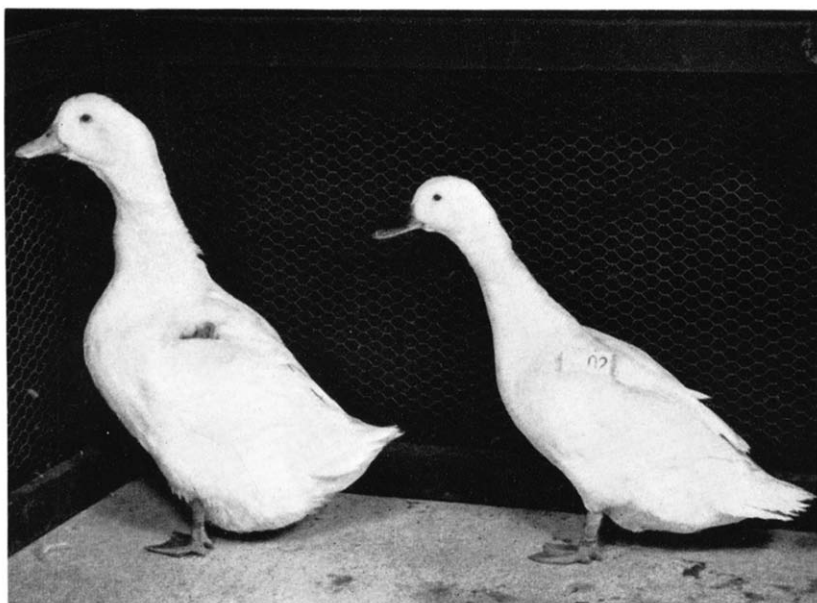


FIG. 1. Cane Pékin témoin (à gauche) et cane Pékin injectée d'ADN de Khaki à partir de l'âge de 7 jours (à droite), toutes deux âgées de 2½ ans.

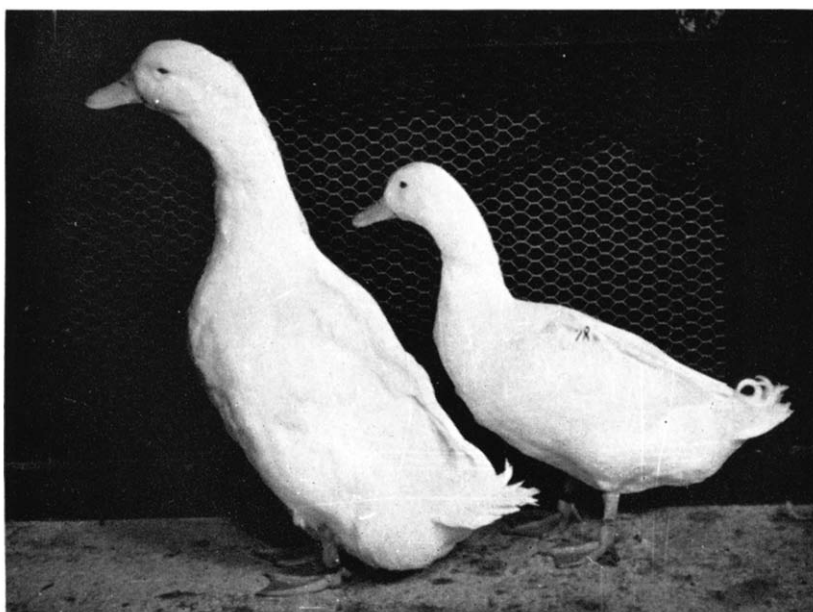


FIG. 2. Pékin mâle témoin (à gauche) et sujet fils de la femelle injectée de la figure précédente (à droite), tous deux âgés de 7 mois environ.



FIG. 3. Cane Pékin témoin (à droite) et cane petite fille des sujets injectés d'ADN de Khaki (à gauche), toutes deux âgées de 7 mois environ.

Nous préciserons cependant que le bec des canes Pékin normales présente parfois des taches et des plages mélaniques. Mais l'étude comparative et évolutive des becs de nos sujets, de leurs témoins et d'un bon nombre d'autres femelles Pékin, nous permet de dire que, chez la femelle Pékin normale, la pigmentation noire est d'apparition moins précoce, moins fréquente, qu'elle est moins développée et très généralement inégalement répartie sur le bec. On en jugera par la Fig. 4, qui représente, à 1 an 8 mois, l'aspect des deux becs les plus fortement pigmentés, l'un de nos femelles injectées (a), l'autre de nos femelles témoins (b). Sans pouvoir encore dire que nos injections d'ADN ont seulement renforcé un phénomène existant dans la race Pékin, ou induit un phénomène spécifique, caractéristique de la race Khaki, nous sommes en mesure d'affirmer que cette intense mélanisation n'a été observée que sur les sujets traités à l'ADN de Khaki.

Cette mélanisation, liée à des facteurs génétiques, l'est aussi à des facteurs hormonaux, étant donné les fluctuations saisonnières de cette mélanisation (que nous ne pouvons pas développer ici) et les différences qui existent entre mâles et femelles. Le bec des mâles Pékin normaux ne se mélanise jamais, à notre connaissance. Celui de 2 de nos 3 mâles injectés (le troisième mourut à 11½ mois) resta jaune-orange pendant plus de 2 ans. Mais le bec du mâle qui présentait les modifications corporelles décrites plus haut est actuellement en voie de pigmentation depuis plusieurs mois. Ce phénomène, apparu à retardement, est important. Nous en reparlerons à propos de la descendance de nos sujets injectés.

(b) *Disparition de la pigmentation jaune-orange.* Un autre phénomène, indépendant du précédent, peut-être plus important que lui et en tous cas plus facile à discuter, apparut chez 4 de nos 9 femelles injectées. En dehors de leur pigmentation noire, plus ou moins accentuée, les becs de ces 4 canes étaient, le 2 avril 1957, complètement dépourvus de la teinte jaune-orange de fond que communique à la peau du bec, chez la cane Pékin normale, la présence de caroténoïdes. Aussi la couleur de fond de ces becs apparaissait-elle rose, du fait du réseau sanguin sous-jacent vu par transparence. Cette absence de caroténoïdes s'est maintenue intégralement chez nos 4 sujets, actuellement âgés de 3 ans 3 mois. Ce caractère insolite est d'autant plus intéressant et important que: (i) Les canes Pékin normales et nos canes témoins en particulier ont toujours un bec jaune-orange, sans doute plus pâle pendant la période de la ponte, mais jamais ce bec n'est complètement privé de caroténoïdes, à aucun moment de l'année ni chez aucun sujet. (ii) Le canard Khaki est porteur, pour le bec, d'un facteur rose dont l'extériorisation est masquée par la couleur ardoisée. Cependant ce facteur n'existe pas toujours à l'état pur, un certain nombre de sujets étant hétérozygotes pour ce facteur. On sait par ailleurs que le facteur "rose" est dominant sur le facteur "jaune".

Ces faits relatifs à la race Khaki, non encore publiés, ont été établis à la Station de Recherches Avicoles de Jouy-en-Josas par R. PERO, à qui nous avons demandé d'étudier la génétique de notre matériel expérimental. L'existence d'un facteur "rose" est connue chez d'autres races de canards, notamment chez l'Aylesbury, où RENDEL (1940) a démontré, par croisement, la dominance du rose sur le jaune. On comprendrait, dès lors, l'absence de pigment caroténoïde dans la peau du bec de quatre de nos femelles injectées.

*Modification de la couleur des pattes*

Les pattes de nos sujets injectés gardèrent pendant trois ans la couleur jaune-orange qu'elles présentent chez les Pékin normaux. Depuis quelques mois cependant, la palmure de 6 des 9 canes injectées s'est foncée par apparition d'un pigment noir, non pas sous forme de ces plages arrondies, parfois assez grandes et d'une teinte homogène, brunâtre, qui s'observent chez certaines canes Pékin normales, mais sous forme d'un damier serré de taches noires, punctiformes, qui peut recouvrir la presque totalité de la palmure. Aucune des 16 canes Pékin témoins actuellement vivantes ne présente ce caractère. Nous sommes donc enclins à le considérer, chez nos sujets traités comme le résultat lointain de nos injections d'ADN de Khaki, race dont les femelles ont des palmures très fortement teintées de brun noir.

#### TRANSMISSION AUX GÉNÉRATIONS SUIVANTES DES CARACTÈRES MODIFIÉS

Ces modifications du corps et de la tête, du plumage, de la pigmentation du bec et des pattes, apparues chez des canetons Pékin injectés d'ADN de Khaki et orientées presque toutes vers le type Khaki, sont-elles transmissibles à la descendance? Cette question, d'un intérêt primordial, fut soumise à l'expérience par l'étude de la descendance des sujets injectés en 1956, obtenue en première (1957), deuxième (1958) et troisième (1959) générations. La précarité de nos moyens ne nous permit pas de réaliser, en 1957, de reproduction pedigree. Celle-ci fut possible en 1958 et 1959 grâce à l'aide de la Station de Recherches Avicoles de Jouy-en-Josas et à celle du CNRS, qui nous construisit une importante ferme expérimentale à Gif-sur-Yvette.

En 1957, nos 9 canes injectées furent divisées en 2 lots de 5 et 4 bêtes, complétés l'un par le mâle injecté modifié, l'autre par le mâle injecté non modifié. En 1958 et 1959, nous associâmes de nouveau, cette fois en reproduction pedigree, mâles et femelles injectés en 1956, en leur adjoignant des canes Pékin normales et en 1959 des canes Khaki. Ces mêmes années, et toujours en reproduction pedigree, des sujets *F1* et *F2*, modifiés ou non modifiés, furent associés, en des combinaisons variées, entre eux et avec des femelles et mâles Pékin normaux ou Khaki.

Nous ne pouvons exposer ici que l'essentiel de nos résultats et d'un point de vue qualitatif\*. Disons d'emblée que nous avons retrouvé, sur un certain nombre d'individus des trois générations successives *F1*, *F2* et *F3* issues des sujets injectés *F0*, les divers caractères modifiés que nous avons observés sur les canetons injectés *F0*† (Figs. 2 et 3). Il y a donc eu transmission à trois générations consécutives des caractères modifiés en *F0*. Ajoutons que, mis en reproduction entre eux 3 années de suite, les sujets *F0* ont chaque fois transmis à leurs enfants (*F1*) leurs caractères modifiés. Les modifications qui, jusqu'à présent, tout au moins, se sont révélées stables seraient donc inscrites dans le patrimoine héréditaire.

\* Donnons cependant quelques résultats chiffrés de nos 3 campagnes de reproduction : 2725 canetons éclos dont 944 à bec rose et 1781 à bec jaune. 2099 ont survécu et ont été examinés à l'âge de 4 mois. Nous avons reconnu 3 sortes de phénotypes : 289 modifiés (dont 1 anormal), 932 Pékin et 878 intermédiaires.

† Nous utilisons *F0* au lieu de *P* afin d'éviter la confusion avec le sigle *P* du mot Pékin.

Examinons les unes après les autres les modifications observées dans leur ordre naturel d'apparition après la naissance.

### *Bec rose*

Dès l'éclosion, un certain nombre de canetons des générations *F1*, *F2* et *F3* ont présenté un bec d'un joli rose ou rose violacé, sans aucune trace de pigment jaune. Ces becs tranchent nettement sur ceux des autres sujets et des canetons Pékin normaux, de couleur jaune ou jaune-orange.

Notons que le bec des canetons Pékin normaux n'est jamais dépourvu de caroténoïdes. Nous n'avons pas observé un seul bec rose sur les 756 canetons Pékin issus des canards témoins de nos sujets injectés ou des enfants de ces témoins, en 1958 et 1959.

Nous avons observé le bec "rose" aussi bien sur les mâles que sur les femelles. Apparu dès l'éclosion, le caractère "rose" s'est maintenu, parfaitement stable chez tous nos sujets, dont les plus âgés ont actuellement 2½ ans.

Parmi les descendants des *F0* injectés, d'autres sujets présentèrent simplement, à l'éclosion, une déficience, souvent très marquée, en caroténoïdes: leur bec, à fond rose, était plus ou moins teinté de jaune. Dans tous ces cas, il est devenu, progressivement, entièrement jaune chez l'adulte.

L'absence de caroténoïdes chez nos sujets à bec rose n'est point due à une carence alimentaire. Tous nos sujets reçurent en effet une même nourriture, riche en caroténoïdes. L'absence de ces pigments paraît avoir une cause génétique: les canetons à bec rose ont toujours au moins un progéniteur (père ou mère) à bec rose. En outre, la transmission du caractère rose paraît obéir, au cours des générations successives—autant que nous permettent de le supposer nos résultats statistiques actuels—aux lois mendéliennes.

Enfin, nous retrouvons la dominance du caractère rose observée par PERO chez le Khaki et par RENDEL (1940) chez l'Aylesbury. Nous possédons notamment un canard mâle *F2* à bec rose (No. 10 185), issu d'un père *F1* à bec rose et d'une mère *F1* à bec rose, qui eut de 4 femelles, à bec jaune, dont 2 canes Pékin, 130 canetons tous possesseurs d'un bec rose. Ce mâle est manifestement homozygote pour le facteur rose, dominant sur le facteur jaune des femelles.

Notons enfin que les 4 canes *F0* à bec à fond rose ont donné naissance, 3 années de suite (1957, 1958 et 1959) à un certain pourcentage de canetons à bec rose, qui ne paraît pas avoir faibli avec les années. Les propriétés conférées à leurs cellules sexuelles par les injections d'ADN se sont donc maintenues jusqu'ici.

### *Forme de la tête et du corps*

Un certain nombre de canetons des générations *F1*, *F2* et *F3* présentèrent, dès l'éclosion, des modifications notables de la tête semblables à celles de l'un ou de leurs deux parents. Les modifications de la forme du corps analogues à celles des adultes: corps plus fin, moins lourd et moins dressé, se remarquent un peu plus tard, à mesure que le corps se modèle, et deviennent très nettes vers l'âge de 3 à 4 mois, lorsque le canard a atteint sa taille d'adulte et que le plumage a acquis son état définitif.

### *Modifications du plumage*

Nous avons observé également, dans la descendance des *F0*, la transmission de l'aspect lisse, compact, du plumage. Chez quelques sujets, le plumage était absolument blanc, comme il le fut chez les *F0* jusqu'à l'âge de 1 an et demi.

### *Pigmentation du bec*

La pigmentation noire du bec qui se produit chez les canes injectées *F0* se développa sur un certain nombre de femelles des première, deuxième et troisième générations, mais au bout de quelques mois seulement, lorsque commença la maturation sexuelle. Les témoins de ces femelles avaient, aux mêmes âges, un bec non pigmenté ou faiblement chargé de mélanine. La mélanisation du bec a atteint, chez certaines femelles des générations *F1* et *F2*, un degré élevé: non seulement des canes *F1* nées en 1957, mais aussi des canes *F2* nées en 1958 ont depuis plusieurs mois un bec presque aussi complètement pigmenté que leurs mères et grand-mères *F0* (Fig. 4, (c) et (e)).

De même que le mâle *F0* modifié présenta tardivement, nous l'avons dit, un début de pigmentation du bec, de même plusieurs mâles des générations *F1*, *F2* et même *F3* montrèrent, mais plus précocement (dès le quatrième mois) un début de pigmentation, sous la forme de fines taches bleutées distribuées aux régions proximale et axiale du bec. Ce fait est d'autant plus remarquable que, nous l'avons dit, le bec des mâles Pékin normaux ne présente jamais ce type de pigmentation.

### *Pigmentation des pattes*

La pigmentation spéciale (damier noir plus ou moins étendu) apparue sur la palmure des canes *F0* s'est reproduite chez plusieurs de nos canes *F1* et *F2*. Aucune des nombreuses canes témoins ne présente ce caractère.

### *Métissage: Animaux modifiés croisés avec des canards Khaki*

Il est établi depuis longtemps que le croisement ♂ Pékin  $\times$  ♀ Khaki donne des produits de type Rouen, c'est-à-dire des individus de taille assez forte, à plumage très voisin de celui du canard sauvage "col vert" pour le ♂ et la ♀.

Inversement, le croisement ♂ Khaki  $\times$  ♀ Pékin donne des sujets de coloris Rouen pour le mâle, et d'une teinte rappelant le plumage Khaki pour la femelle; la taille des individus est moins développée que celle des Rouen, mais la tête est plus globuleuse que celle du Khaki.

Le métissage, obtenu soit par croisement de ♂ Khaki avec des ♀ modifiées à la suite des injections d'ADN soit par le croisement inverse (♂ modifié  $\times$  ♀ Khaki) produit des types différents du type classique Rouen, tous les géniteurs venant évidemment de reproduction pedigree.

Le ♂ Khaki croisé avec des ♀ modifiées donne des individus ♂ à coloris Rouen et des ♀ d'une teinte "noisette" légèrement plus foncée que la teinte du plumage de la ♀ issue du croisement ♂ Khaki  $\times$  ♀ Pékin. La tête fine est du type Khaki. Le croisement ♂ modifié  $\times$  ♀ Khaki donne deux types d'individus:

(a) D'une part des animaux très fortement foncés: le mâle conserve le "col vert" mais le reste du plumage est d'un brun châtaigne foncé; la ♀ est presque entièrement brun noir, avec des plumes unies et parfois quelques taches blanches

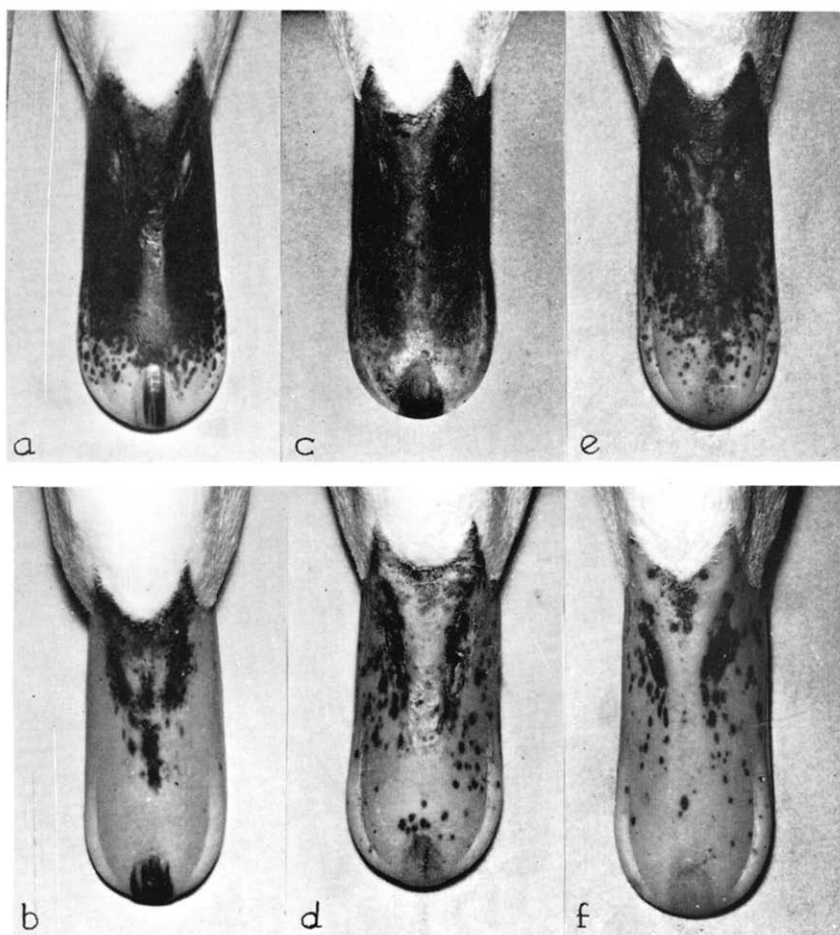


FIG. 4. Becs de canes : (a) *F0* 25, injectée d'ADN (1 an 8 mois); (b) Cane Pékin no. 5567, témoin de la précédente, au même âge. Cette cane est, parmi les canes témoins, celle dont le bec est le plus pigmenté. (c) *F1* 166, fille des *F0* injectés (1 an 8 mois). (d) Cane Pékin normale no. 732, au même âge. (e) *F2* 10 191, petite fille des *F0* injectés (1 an environ). (f) Cane Pékin 10 366, petite fille d'un canard et d'une cane Pékin témoin des *F0* (1 an environ).

plus ou moins développées sur le cou, les ailes et l'abdomen. On n'observe pas de miroir sur les ailes. Le phénotype de la ♀ est ainsi entièrement différent de celui du croisement Pékin  $\times$  Khaki.

(b) D'autre part des animaux rappelant le Rouen; le ♂ est du type "col vert"; la ♀, petite de taille, a un plumage foncé, avec un dessin comparable à celui de la cane Rouen mais beaucoup plus sombre et sans miroir.

#### DISCUSSION

Nous avons donc observé, à la suite d'injections d'ADN de canard Khaki à des canetons Pékins âgés de 7 jours, l'apparition de plusieurs caractères somatiques qui ne sont plus du type Pékin, mais dont plusieurs rappellent le type Khaki. Mis en reproduction, ces sujets modifiés ont transmis leurs caractères à leurs enfants *F1*, ceux-ci aux petits-enfants *F2* et ces derniers aux arrière-petits-enfants *F3*.

Tels sont, dans leur ensemble, les faits observés. Soumettons les à une discussion critique.

(1) Se pourrait-il que l'extrait injecté, n'ait, en réalité, exercé aucune action et que les faits notés chez les sujets *F0* se soient—simple coïncidence—spontanément produits chez des animaux qui auraient été des "métis naturels", en voie de ségrégation mendélienne?

Dans les perspectives de cette hypothèse il faudrait donc concevoir—ce qui d'ailleurs n'est pas impensable—que des générateurs de races différentes aient donné des produits d'où seraient issus nos canards "supposés" "modifiés". Mais on devrait également supposer que ces générateurs étaient phénotypiquement Pékin et que leur véritable génotype échappa à l'éleveur. Il est, en effet, impensable que des animaux aberrants aient pu passer inaperçus, se maintenir et se reproduire dans un élevage où le nombre des sujets était toujours très faible et qui était réputé pour la qualité de ses produits. D'autant plus que le plumage de nos animaux "modifiés", d'abord complètement blanc, retrouva quelques mois après la fin des injections, la pigmentation soufrée caractéristique du Pékin. Cette dépigmentation, puis la nouvelle pigmentation du type Pékin standard, indiqueraient bien qu'originellement (en ce qui concerne ce point de vue particulier) l'un au moins des ancêtres de nos canards d'expérience appartenait à la souche Pékin.

Ainsi, admettons l'hypothèse d'un métissage, au point de départ. Le croisement entre eux des sujets issus de géniteurs de race différente doit permettre de retrouver dans les descendants les proportions mendéliennes habituelles. Or, après trois campagnes successives de reproduction, l'examen méticuleux des caractères phénotypiques de 2099 sujets, nés de nos canards modifiés, croisés entre eux ou croisés avec des Pékin, eux-mêmes vérifiés par *inbreeding*, ne nous a pas encore révélé d'autre type que le type Pékin, le type "modifié" et le métis Pékin  $\times$  modifié. Cet examen qui doit se poursuivre au cours des saisons prochaines sur de nouveaux sujets obtenus par des croisements semblables ou parallèles aux premiers, nous permettra, en prolongeant notre enquête, d'apprécier la valeur de l'objection et d'y répondre en parfaite objectivité.

Nous avons insisté dans les pages précédentes sur l'absence de caroténoïdes, du bec de 4 des femelles injectées: au lieu d'être jaune, le bec est rose. Si ce caractère particulier n'était pas le résultat du traitement il faudrait encore supposer:

(a) que le bec d'au moins un des parents de ces femelles était rose et que cette couleur, insolite dans l'élevage de Pékin à becs jaune-orange, a échappé à l'éleveur. Nous savons en effet que les canetons à bec rose ont toujours au moins un progéniteur (père ou mère) à bec rose.

(b) que le bec des 4 femelles précitées était rose à la naissance et donc que, ni l'éleveur, ni ensuite les expérimentateurs, au cours de leurs manipulations répétées des sujets, ne se sont aperçus d'un phénomène aussi exceptionnel. Il fut établi en effet qu'un adulte à bec complètement dépigmenté a dû le posséder tel dès sa naissance; à moins évidemment qu'un expédient physiologique tel que l'ADN ait pu modifier l'évolution normale de la pigmentation.

(2) Ne pourrait-on pas alors admettre que les sujets "modifiés" aient simplement été le jouet de "mutations spontanées"? Le calcul des probabilités, appliqué aux 9 canetons modifiés, sur 12 injectés, pris au hasard dans un lot de 600 sujets Pékin normaux, démontrerait évidemment l'invraisemblance d'une telle hypothèse.

(3) Mais l'ADN lui-même est-il l'agent réel des modifications? Des traces de substances protéiques extraites avec l'ADN ne seraient-elles pas responsables de ces phénomènes? Bien que la pureté de l'ADN employé, contrôlé par l'analyse chimique, rende cette hypothèse improbable, la question soulevée ne peut pas recevoir actuellement de réponse définitive.

(4) L'ADN peut-il avoir exercé un effet non spécifique? Des injections d'ADN dépolymérisé ou d'ADN très différents, originaires d'autres espèces ou d'autres classes d'animaux, permettront de répondre à cette question. Remarquons toutefois que plusieurs caractères nouveaux, en particulier le bec rose, semblent bien porter la marque de la race Khaki.

(5) L'action de l'ADN, indéniable, aurait-elle simplement consisté à rendre possible une résurgence atavique de certains caractères ancestraux? Les caractères somatiques du Pékin sont fixés peut-être depuis des siècles et pour le moins depuis 1874, date à laquelle G. P. ANTHONY, dans le *Poultry World*, décrit les mêmes caractères généraux de cette race que ceux qu'elle présente aujourd'hui. De plus, l'hypothèse d'une résurgence ne peut être acceptable que pour des caractères récessifs. Elle est évidemment incapable d'expliquer le "bec rose" qui est un caractère dominant. Comme tel, il ne peut "résurger" puisque, par définition, l'absence de ses manifestations signifie, en fait, qu'il n'existe réellement pas dans le génotype.

(6) Bien que nous ne puissions pas affirmer que l'ADN ait agi d'une manière spécifique, une telle action est cependant probable. Quel pourrait être, dans cette hypothèse, le mécanisme de cette action? Nous abordons ici les problèmes *a priori* fort complexes de la pénétration des macromolécules injectées ou de fragments de celles-ci dans l'organisme et du mécanisme de leur action morphogénétique. Les solutions de ces problèmes ardues ne sont pas encore en vue et nous ne perdrons pas de temps à les discuter. Remarquons cependant la complexité du problème dans son ensemble, qui doit inclure des problèmes particuliers à l'échelle de l'organisme. Une constatation nous frappe en effet: les modifications

\* Un sujet injecté F0 et 2 sujets F1 présentèrent des modifications anormales, dysharmoniques, peut-être dues, mais non obligatoirement, aux injections. Nous ne pouvons, faute de place, étudier ici ces cas spéciaux.

observées sont, dans l'ensemble\*, harmonieuses. Cette harmonie de développement des sujets *F0* et de leurs descendants modifiés frappe à la simple vue de leur aspect général (Figs. 1 à 3). Ajoutons que leur santé est excellente et que leurs facultés de reproduction sont normales. Dans les processus de fixation de l'ADN dans l'organisme et de son rôle dans la morphogenèse, il faut très probablement faire une part importante aux mécanismes normaux d'intégration, de régulation, d'harmonisation de cet organisme et de son adaptation à la cause perturbatrice qui lui est imposée. Il ne s'agit pas seulement ici de raisonner cellulièrement, comme on peut se limiter à le faire dans l'étude de la "transformation" chez les bactéries, mais aussi à l'échelle élevée de l'organisme, qui forme un tout et en qui des lois spéciales interviennent pour maintenir, dans les limites du possible, l'harmonie de ce "tout". Nous ne saurions trop insister sur cette considération, qui nous paraît fondamentale. La réponse de l'organisme entier, en tant que tout, serait évidemment anarchique, si elle était seulement la sommation de réponses cellulaires individuelles. Elle doit au contraire résulter d'une intégration qui assure ce caractère harmonieux que nous avons relevé, intégration qui peut se réaliser à plusieurs niveaux, peut-être même à celui du génôme et du chromosome.

(7) On peut s'étonner en outre que des modifications aussi importantes que celles de la forme du corps et de la tête aient pu encore se produire au cours de l'ontogenèse postnatale, après la première semaine. Ces faits ne laissent pas en effet d'être surprenants. Remarquons cependant combien un caneton, éclos ou âgé de quelques jours, est encore loin de posséder les caractéristiques anatomiques des adultes de sa race. N'observe-t-on pas, d'ailleurs, même dans l'espèce humaine, que des facteurs pathogéniques infléchissent, même tardivement, le développement et sont capables d'induire des modifications prononcées de la forme du corps, de la tête ou des membres?

(8) Attirons l'attention sur le cas du mâle *F0* qui fut "modifié" après cinq injections seulement, pratiquées entre les âges de 7 et de 36 jours. Signalons en outre que des expériences d'injection d'ADN dans l'oeuf avant ou pendant l'incubation, pratiquées par nous et par d'autres auteurs, furent jusqu'ici négatives. Ne se pourrait-il pas que l'organisme ne soit réceptif à l'action modificatrice de l'ADN qu'à une certaine période bien déterminée de son développement? Cette idée a déjà été avancée par plusieurs auteurs dans le cas de l'hybridation végétative.

#### NOUVELLES EXPÉRIENCES D'INJECTION D'ADN

En fin de cette étude, disons quelques mots des tentatives nouvelles d'injection d'ADN à des canetons Pékin, que nous avons faites en 1957, 1958 et 1959. En 1956, nous avons injecté un certain ADN, conservé à l'état solide à  $+2^{\circ}\text{C}$ . Il en fut de même en 1957. En 1958, nous avons utilisé un ADN préparé un peu différemment, extrait liquide conservé congelé à  $-25^{\circ}\text{C}$  environ. En 1959, nous avons employé des ADN des deux types.

Les résultats à court terme des expériences de 1957 et 1958 ont été négatifs.\* "A court terme", précisons-nous, car, forts des résultats inattendus de l'expérience de 1956, nous avons recherché en 1957 et 1958, non plus, selon nos projets initiaux, des résultats éloignés, dans une des générations *F1*, *F2* ou *F3* issues des sujets

\* Nous avons injecté pendant ces deux années, 295 sujets avec divers ADN.

injectés, mais des modifications des sujets injectés eux-mêmes et, faute de place, nous n'avons pas pu conserver longtemps des sujets qui, après quelques mois, ne présentaient pas de modifications somatiques par rapport aux témoins.

Nous devons donc dire, en toute objectivité, que nous n'avons pas observé, dans nos expériences de 1957 et 1958, de résultats prochains de nos injections, mais nous ne pouvons pas affirmer que des résultats lointains, modifications pigmentaires par exemple, ne se seraient pas ultérieurement produits.

Quant aux expériences de traitement à l'ADN pratiquées durant l'année 1959, elles ont consisté en injections et parfois en implantations d'ADN divers provenant de canards Khaki, Pékin, Aylesbury, métis ♂ Pékin  $\times$  ♀ Khaki, descendants modifiés des canards Pékin traités en 1956 et de veau. Ainsi furent traitées 22 séries de canetons (Pékin, Khaki, descendants de canards modifiés) comprenant en tout 205 individus et 147 témoins, frères et soeurs des traités, tous nés en reproduction pedigree. Certaines de ces expériences sont encore en cours et nous devons attendre avant d'en juger les résultats.

Que pouvons-nous dire des résultats négatifs des années 1957 et 1958? Les différences des procédés d'extraction et d'utilisation de l'ADN les expliqueraient-elles? Il se peut aussi que des facteurs dont la notion nous échappe actuellement soient intervenus, soit dans le mode de préparation de l'ADN, soit dans les conditions physiologiques des expériences. Certaines conditions de réceptivité de l'organisme sont peut-être tout aussi importantes que le procédé d'extraction de l'ADN. Certaines conditions géniques ont peut-être existé, même chez des Pékin authentiques et sélectionnés, comme ceux que nous avons utilisés en 1956, qui ne se sont pas reproduites ultérieurement sur un matériel cependant apparemment identique. Remarquons en outre que, dans notre expérience de 1956, sur 12 animaux traités, 9 ont répondu et les 3 autres non. Des facteurs individuels jouent donc aussi un rôle important dans le phénomène que nous étudions. On connaît bien d'ailleurs l'existence de ces facteurs individuels chez les micro-organismes, où l'on sait qu'un très faible nombre des individus d'une même colonie subissent le phénomène de "transformation".

#### RÉSUMÉ

(1) Soumis à des injections intrapéritonéales d'un extrait d'ADN de canard Khaki Campbell, pendant une durée limitée, des canetons Pékin âgés de 7 jours ont présenté, au cours de leur développement ultérieur, des modifications phénotypiques notables, par rapport aux sujets témoins, concernant la forme de la tête et du corps, le port et le poids de l'animal, certains aspects du plumage et la pigmentation du bec et des pattes.

(2) Le métissage obtenu par le croisement de mâles Khaki avec des femelles modifiées, ou de mâle modifié avec des femelles Khaki produit des types de plumages différents de ceux obtenus par les croisements Khaki  $\times$  Pékin ou Pékin  $\times$  Khaki.

(3) Les modifications observées sur les Pékin injectés et modifiés, se sont transmises aux générations suivantes  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$ , véhiculées sans doute par les cellules sexuelles mâles aussi bien que femelles.

(4) L'origine et la nature des sujets utilisés pour les injections, l'origine, la nature et le nombre de leurs témoins, le type particulier de nos sujets, et enfin la convergence de tous les faits et résultats positifs enregistrés semblent indiquer que les modifications observées chez les sujets injectés et transmises à la descendance sont difficilement explicables autrement que par l'action de l'ADN injecté. L'avenir dira s'il est possible de fixer les modifications raciales obtenues. Cela nous paraît déjà hautement probable en ce qui concerne le caractère "rose" du bec.

(5) Nous aurions donc enregistré, au cours de nos expériences, deux effets différents de l'ADN: l'un sur le sujet injecté lui-même, explicable peut-être par une action physiologique directe sur la chaîne des processus aboutissant au développement complet des caractères; l'autre, plus éloigné, sur la descendance, conséquence probable d'une modification permanente et apparemment stable du patrimoine héréditaire.

#### BIBLIOGRAPHIE

- BENOIT J. (1957) *Strasbourg méd.* **11**, 785.  
 BENOIT J., LEROY P., VENDRELY C. et VENDRELY R. (1957a) *C.R. Acad. Sci., Paris* **244**, 2320.  
 BENOIT J., LEROY P., VENDRELY C. et VENDRELY R. (1957b) *C.R. Acad. Sci., Paris* **245**, 448.  
 BENOIT J., LEROY P., VENDRELY C. et VENDRELY R. (1958) *C.R. Acad. Sci., Paris* **247**, 1049.  
 BENOIT J., LEROY P., VENDRELY C. et VENDRELY R. (1959a) *C.R. Acad. Sci., Paris* **248**, 2519.  
 BENOIT J., LEROY P., VENDRELY C. et VENDRELY R. (1959b) *C.R. Acad. Sci., Paris* **248**, 2646.  
 RENDEL J. M. (1940) *J. Genet.* **40**, 439.  
 VENDRELY R., KNOBLOCH-MAZEN A. et VENDRELY C. (1959) The cell nucleus, in *Informal Faraday Society Meetings*, Cambridge University Press. Sous presse.

## DISCUSSION

J. HUPPERT: Combien de préparations différentes ont été utilisées dans les séries négatives?

C. VENDRELY: Environ vingt préparations différentes d'ADN.

R. THOMAS: Quelle est la proportion d'animaux à bec rose dans la descendance du croisement (Pékin  $\times$  Khaki)  $\times$  (Pékin  $\times$  Khaki)?

J. BENOIT: J'ignore le pourcentage de sujets à plumage entièrement blanc et à bec rose obtenus par M. R. PÉRO, en deuxième génération, de ce croisement.\*

A. DELAUNAY:

(1) J'aimerais que M. le Prof. BENOIT précise dans quelles conditions a été obtenue la première génération de canetons à partir de canards artificiellement modifiés.

(2) Le mécanisme intime des modifications observées demeurant tout à fait inconnu, peut-être serait-il bon de regarder si, en quelque mesure, les conditions écologiques n'ont pas ici joué un rôle.

J. BENOIT:

(1) J'ai dit que, faute d'une installation suffisante, en 1957, les canards injectés avaient été mis cette année en reproduction non pedigree. Je précise que le ♂ modifié fut placé dans un parquet avec 5 ♀ modifiées et le ♂ non modifié avec les 3 autres ♀ modifiées et la ♀ non modifiée.

(2) Bien que peu probables *a priori*, des conditions écologiques inconnues ne sont cependant pas, en effet, à exclure.

P. MANIL: Puis-je vous demander si, à votre connaissance, des expériences analogues à celles que vous avez exposées ont été ou sont entreprises actuellement pour la poule, dont la génétique est mieux connue que celle du canard? Et quels sont les résultats éventuels?

J. BENOIT: Les biologistes américains SIBLEY et SRB ont repris nos expériences sur le poulet. Ils m'ont dit n'avoir obtenu jusqu'à présent que des résultats négatifs. Un biologiste allemand qui doit prochainement venir me voir à Paris m'a écrit récemment, sans plus de détails, qu'il pensait avoir obtenu des résultats positifs sur de jeunes poussins.

J. N. DAVIDSON: Je voudrais demander si, comme témoin, vous avez essayé d'injecter de l'ADN préparé d'autres espèces d'animaux, par exemple de vache ou de poisson?

J. BENOIT: Oui, nous avons injecté des ADN de veau et de truite, par exemple, et obtenu des résultats négatifs. Mais comme les injections, faites parallèlement, d'ADN de Khaki à des canetons Pékin n'ont alors donné aucun résultat positif, les résultats négatifs des injections d'ADN de veau et de truite perdent, de ce fait, toute signification.

\* Mr. PÉRO, consulté ultérieurement, indique que ce pourcentage était de 13 pour cent environ.