

Analyse moléculaire du génome du caféier Arabica

Relations avec la valorisation des ressources génétiques

P. Lashermes¹ N.S. Prakash¹

M.-C. Combes¹ P. Topart²

J.C. Herrera¹ F. Anthony²

S. Noir¹

Introduction

Les caféiers appartiennent à la famille des Rubiaceae et constituent la tribu des *Coffeae*. Sur la base de caractéristiques florales, on distingue deux genres, *Coffea* et *Psilanthus*, subdivisés en deux sous-genres. Plus de 90 taxons, dont les deux espèces cultivées *C. arabica* et *C. canephora*, ont été recensés dans le genre *Coffea* sous-genre *Coffea*. Ils sont endémiques de la zone intertropicale d'Afrique, de Madagascar et des îles Mascareignes. Les espèces appartenant au genre *Coffea* sont toutes diploïdes ($2n = 22$) à l'exception de l'espèce *C. arabica* qui est tétraploïde ($2n = 4x = 44$).

Le café est la première ressource agricole d'exportation dans le monde en termes de devises. Le café de bonne qualité produit par l'espèce *Coffea arabica* L. représente 75 % de la consommation

¹ IRD, GeneTrop, BP 5045, F-34032 Montpellier cedex 1, France.

² Catie/IRD, Ap59, 7170 Turrialba, Costa Rica.

mondiale. Les principaux pays producteurs sont situés en Amérique latine, en Asie et en Afrique de l'Est. Outre le rôle évident du caféier dans le développement économique de ces pays, sa culture constitue un important facteur de stabilité sociale en raison des emplois qu'elle génère. À titre d'exemple, les exportations de café représentent entre 20 et 25 % de la valeur totale des exportations, selon les années, pour les pays producteurs d'Amérique centrale. *Coffea arabica* est un arbuste originaire des forêts d'altitude d'Éthiopie, du sud Soudan et du nord du Kenya (Anthony *et al.*, 2001). Les principales variétés furent sélectionnées à partir de l'étroite base génétique (fig. 1) dispersée au début du XVIII^e siècle par les puissances coloniales (Pays-Bas, France, Angleterre). Elles sont hautement productives, produisent un café de bonne qualité, mais se sont révélées sensibles à la plupart des parasites et ravageurs qui attaquent le caféier, dont la rouille orangée due à *Hemileia vastatrix*, l'antracnose des baies causée par *Colletotrichum kahawae*, les nématodes des genres *Meloidogyne* et *Pratylenchus*, la mineuse des feuilles *Perileucoptera coffeella* et le scolyte des baies *Hypothenemus hampei* (Bertrand *et al.*, 1999). Les méthodes de lutte actuelles, reposant essentiellement sur des traitements chimiques, conduisent à un usage excessif de pesticides, avec des conséquences néfastes pour l'environnement et la santé humaine.

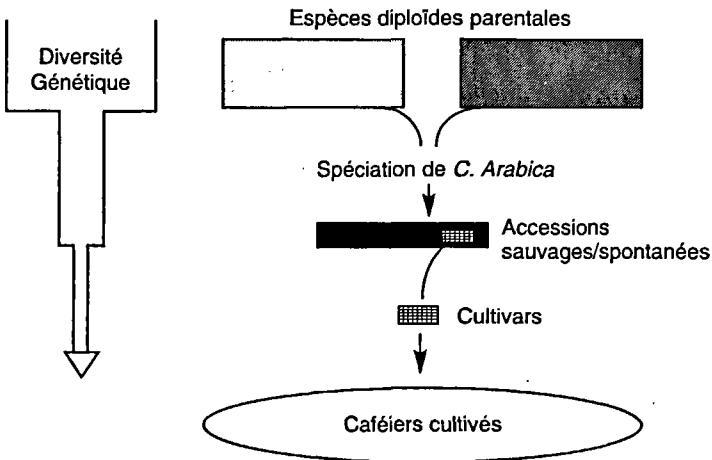


Figure 1
Base génétique étroite des variétés de caféier Arabica.

L'utilisation des ressources génétiques que constituent les espèces diploïdes de caféiers ($2n = 2x = 22$) et les formes sauvages d'Arabica est essentielle pour l'amélioration de *C. arabica* dans une perspective de développement durable (Anthony *et al.*, 1999). Des gènes d'intérêt agronomique ont déjà été mis en évidence chez plusieurs espèces diploïdes, comme par exemple des résistances à certains nématodes et à l'antracnose des baies chez *C. canephora*, à la rouille chez *C. canephora* et *C. liberica*, à la mineuse des feuilles chez *C. racemosa* (Van der Vossen, 1985 ; Guerrero Filho *et al.*, 1999). L'exploitation de ces sources de résistance par les voies de la génétique constitue une approche prometteuse pour la création de nouvelles variétés (Carvalho, 1988 ; Charrier et Eskes, 1997). Toutefois, une bonne connaissance génétique du génome de *C. arabica* et des mécanismes associés au processus d'introgession s'avère indispensable à une utilisation optimale de ces ressources dans les programmes de sélection. Dans ce sens, plusieurs analyses moléculaires ont été entreprises au cours des dernières années.

■ Origine et structure du génome de *C. arabica*

Phylogénie du genre Coffea

L'ADN chloroplastique constitue un support privilégié des études phylogénétiques chez les plantes supérieures (Clegg et Zurawski, 1992). Dans un premier temps, une transmission strictement maternelle de l'ADN chloroplastique (ADNcp) a été démontrée chez l'espèce *C. canephora* et les hybrides interspécifiques entre *C. arabica* et *C. canephora* (Lashermes *et al.*, 1996). Par la suite, les variations de l'ADN chloroplastique de 27 taxons représentatifs du genre *Coffea* sous-genre *Coffea* ont été étudiées par plusieurs approches incluant une analyse RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) à l'aide de sondes hétérologues (*Lactuca sativa*) et le séquençage de la région intergénique *trnL-trnF* (Cros *et al.*,

1998). Le génome nucléaire a aussi été étudié afin de pallier au faible polymorphisme présenté par l'ADNcp des caféiers et de comparer les phylogénies obtenues par l'analyse des génomes chloroplastique et nucléaire. Plus particulièrement, le fragment ITS2 (internal transcribed spacers) de la grande sous-unité nucléaire codant pour l'ARN ribosomique a été séquencée pour 40 génotypes représentant 28 taxons de *Coffea* et 4 espèces de *Psilanthus* (Lashermes *et al.*, 1997). Les analyses phylogénétiques de ces données moléculaires suggèrent une explosion radiative récente (largement postérieure à la dislocation du Gondwana) et l'existence d'au moins 5 groupes phylogénétiques relativement peu différenciés. Ces groupes d'espèces de caféiers (*Coffea* sous-genre *Coffea*) correspondent globalement à des ensembles biogéographiques : zone guinéo-congolaise (deux groupes), Afrique de l'Est, et Madagascar et les îles Mascareignes (fig. 2). Aucune différence n'a été mise en évidence entre l'ADNcp de *C. arabica* et celui de certaines accessions diploïdes (*C. eugenioides*, *C. sp.* Moloundou). Par ailleurs, la séquence ITS2 (type majoritaire) de *C. arabica* apparaît proche de celles des espèces du groupe des « canephoroides » (*C. brevipes*, *C. canephora*, *C. congensis*...).

Une origine allotétraploïde

Plusieurs approches complémentaires ont été conduites afin de caractériser et de déterminer l'origine du génome de *C. arabica* (Lashermes *et al.*, 1999). Le polymorphisme nucléaire a été analysé par RFLP en utilisant des sondes spécifiques de locus. Les allèles présents chez *C. arabica* ont été recherchés au sein des espèces diploïdes. Par ailleurs, l'hybridation génomique *in situ* (GISH) qui consiste en l'hybridation des chromosomes métaphasiques d'une espèce donnée par l'ADN total d'une autre espèce, a été utilisée (fig. 3). Le génome de *C. arabica* apparaît constitué par l'association de deux génomes diploïdes (dénommés C^a et E^a). Les différents résultats indiquent que cette espèce résulterait d'une hybridation récente entre deux espèces diploïdes de caféier proches des espèces actuelles *C. eugenioides* (parent femelle) et *C. canephora* (parent mâle).

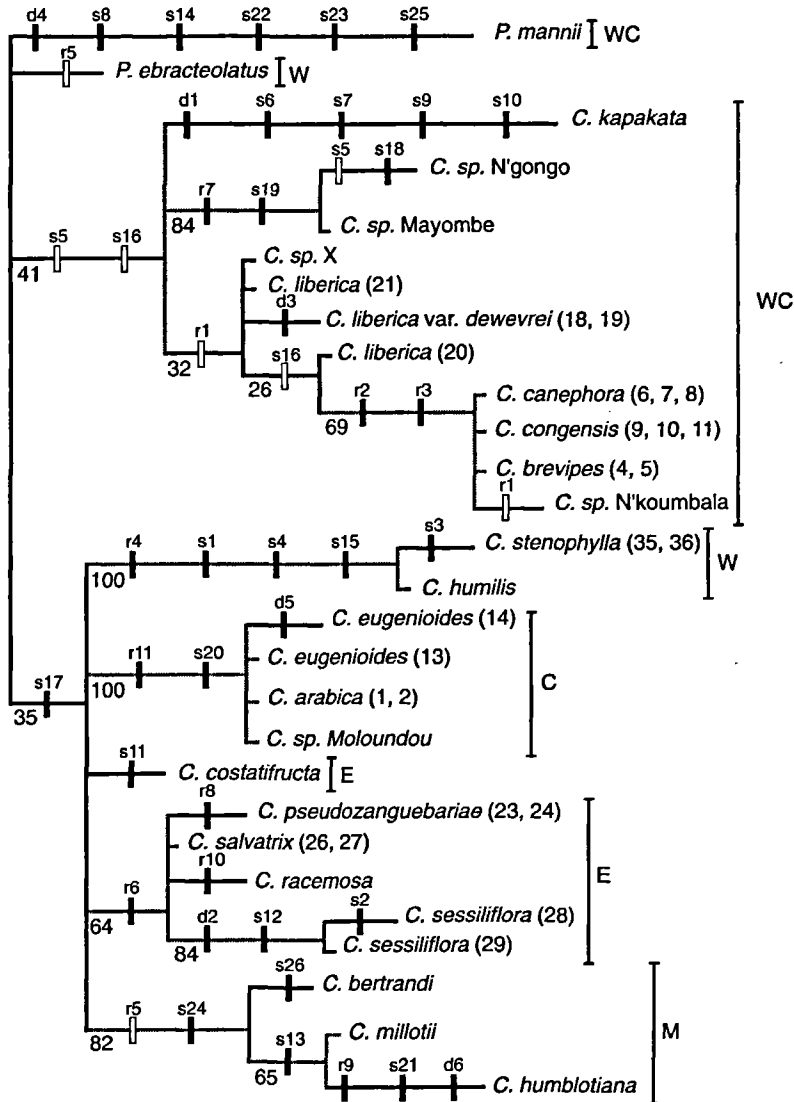
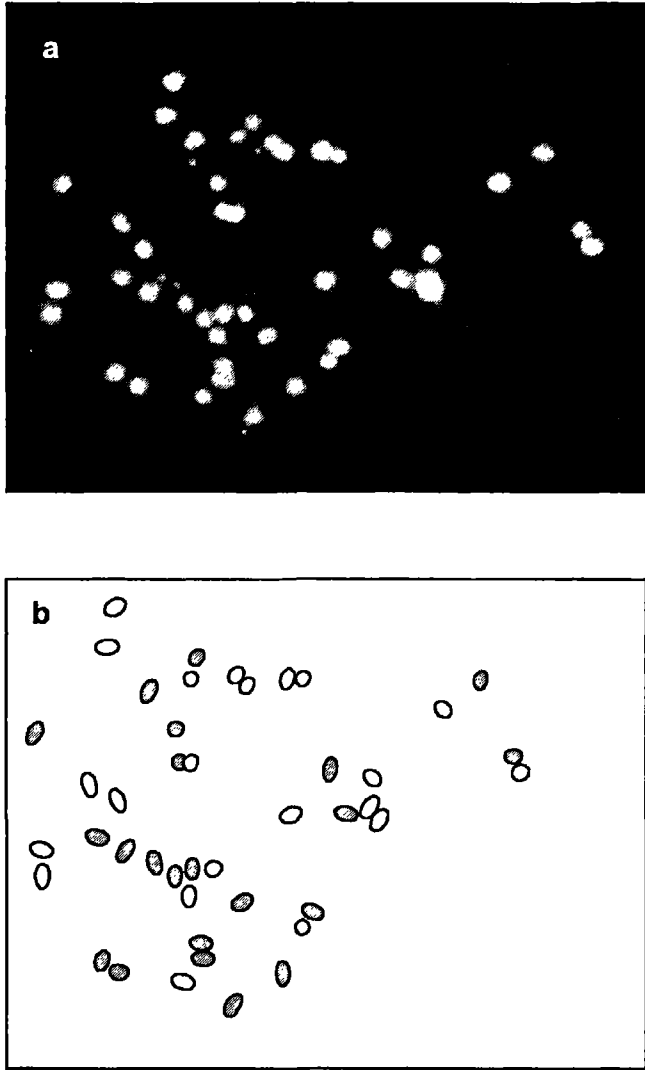


Figure 2
 Arbre phylogénétique de parcimonie obtenu par l'analyse du polymorphisme de l'ADN chloroplastique des caféiers (Cros *et al.*, 1998). Les mutations supportant chaque branche sont indiquées par des barres ; les barres pleines représentent les caractères non-homoplasiques. Les lettres suivant les clades indiquent la distribution géographique des espèces concernées : W (Afrique de l'Ouest), E (Afrique de l'Est), C (Afrique centrale) et M (région malgache).



■ Figure 3

a) Chromosomes métaphasiques de *C. arabica* suite à une hybridation *in situ* multi-couleur (GISH) utilisant simultanément l'ADN des génomes de *C. canephora* et *C. eugenioides* comme sondes ;

b) Représentation schématique montrant le classement proposé des chromosomes en deux groupes (Lashermes *et al.*, 1999).

Un mode d'hérédité disomique dû à un contrôle génétique des appariements

L'espèce *C. arabica* présente un comportement méiotique comparable à celui des espèces diploïde avec la formation prépondérante de bivalents (Grassias et Kammacher, 1975). Par l'analyse, à plusieurs locus RFLP, des ségrégations au sein d'une population F_2 (fig. 4), un mode d'hérédité disomique a été établi chez *C. arabica* (Lashermes *et al.*, 2000 a). À la méiose, les chromosomes homologues (i.e. appartenant au même sous-génome) s'appariaient de façon systématique pour former des bivalents. Le comportement méiotique d'un hybride interspécifique Arabusta (*C. arabica* x *C. canephora* 4x) a aussi été étudié à travers la ségrégation de marqueurs moléculaires. Bien que la formation de bivalents soit privilégiée (Grassias, 1980), une ségrégation de type polysomique a été démontrée chez l'Arabusta (Lashermes *et al.*, 2000 a). Le contrôle des appariements entre chromosomes, présent chez *C. arabica*, est inopérant au sein de l'hybride Arabusta, rendant les associations chromosomiques aléatoires. Ce résultat a notamment permis de suggérer que le comportement méiotique de type diploïde observé chez *C. arabica* ne serait pas la conséquence d'une différenciation génomique mais dû à un contrôle génétique.

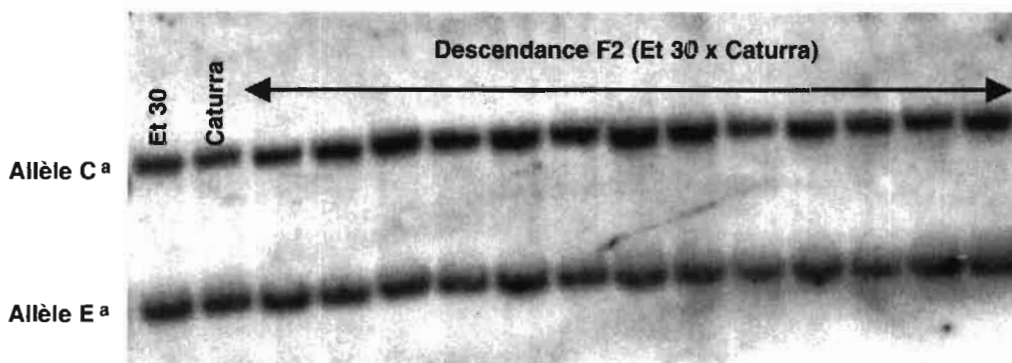
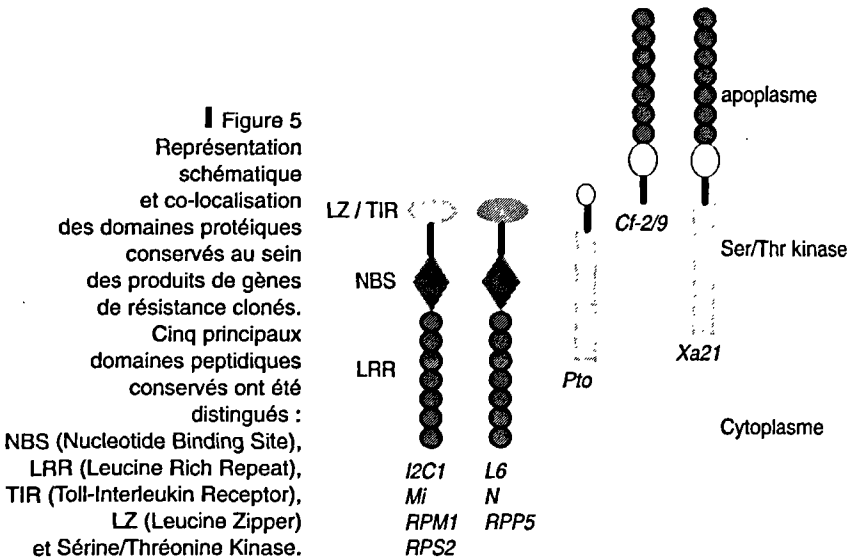


Figure 4
Hérédité de type disomique chez *C. arabica* :
exemple de ségrégation à un locus RFLP (gA6)
au sein d'une descendance F_2 (Lashermes *et al.*, 2000 a).

Diversification des gènes de résistance au sein des caféiers

Dans le cadre de la résistance gène-à-gène, de nombreux gènes de résistance aux maladies (gènes-R) ont été clonés (Richter et Ronald, 2000 ; Noir et Lashermes, 2000). Bien que ces gènes aient été isolés de diverses espèces végétales et qu'ils soient dirigés contre des agents pathogènes variés, les produits déduits de leur séquence respective révèlent des similarités structurales (fig. 5 ; Hammond-Kosack et Jones, 1997). Par ailleurs, la caractérisation moléculaire de ces gènes a montré que les gènes-R sont généralement membres de familles multigéniques. Ils sont le plus souvent associés à des séquences homologues en un ou plusieurs clusters (Young, 2000). L'analyse de ces clusters montre l'implication dans l'évolution des gènes-R de différents mécanismes, tels que les duplications, les recombinaisons, la conversion de gènes ou encore les substitutions. Ces mécanismes seraient à l'origine de nouvelles spécificités de résistance en réponse à l'évolution de la pression parasitaire (Ellis *et al.*, 2000).



Les gènes de type NBS-LRR constituent la principale classe de gènes-R clonés chez les plantes. Des motifs peptidiques consensus des domaines NBS ont été identifiés (Meyers *et al.*, 1999). Ceux-ci rendent possible, par amplification PCR, d'isoler des séquences analogues de gènes-R (AGR). Des amorces oligonucléotidiques dégénérées et non dégénérées ont été définies sur la base des motifs P-loop et GLPL, observés au sein des domaines NBS des gènes-R clonés (Shen *et al.*, 1998). Ces amorces ont été utilisées lors d'amplification par PCR d'ADN génomique des espèces *C. arabica* et *C. canephora*. Les produits amplifiés ont été clonés puis séquencés.

Différents critères (i.e. cadre de lecture ouvert, présence de transcrits, motifs intermédiaires caractéristiques de domaines NBS des gènes-R) ont permis de montrer qu'une quarantaine de ces clones correspondent à des AGR. L'étude des séquences d'AGR de caféier met en évidence leur grande diversité. Leur classification permet de distinguer au moins 8 familles. Par ailleurs, un nombre important de différents AGR est observé au sein d'un unique individu. Des analyses phylogénétiques (fig. 6) ont été effectuées à partir des séquences peptiques déduites des AGR de caféier et des domaines NBS de gènes-R (isolés chez *Arabidopsis*, la tomate, la pomme de terre, le poivron, la laitue, le maïs et le riz). Les séquences de la majorité des AGR de caféiers apparaissent étroitement proches de celles de domaines NBS de gènes-R. D'après la distinction entre classes « TIR » et « non-TIR » des gènes-R proposées par Pan *et al.* (2000), tous les AGR de caféiers isolés appartiennent à la classe non-TIR de gènes-R. De plus tous les domaines NBS de type non-TIR considérés dans cette analyse (à l'exception de *Dm3*) sont associés à l'une des familles d'AGR de caféier isolés.

En conclusion de cette étude (Noir *et al.*, 2001), il apparaît que, chez le caféier, les séquences codant pour le domaine NBS présentent une évolution intra-famille et lente. Dans le cas de cette plante pérenne, la capacité de réponse à l'évolution des agents pathogènes semble être assurée par le maintien de multiples séquences d'AGR variées plutôt que par une diversification rapide de ces séquences. Par ailleurs, les similarités de séquences particulièrement importantes entre les AGR de caféiers et les gènes-R isolés d'autres espèces angiospermes, telles que *Arabidopsis*, la tomate ou le riz, suggèrent une origine ancestrale commune de ces séquences.

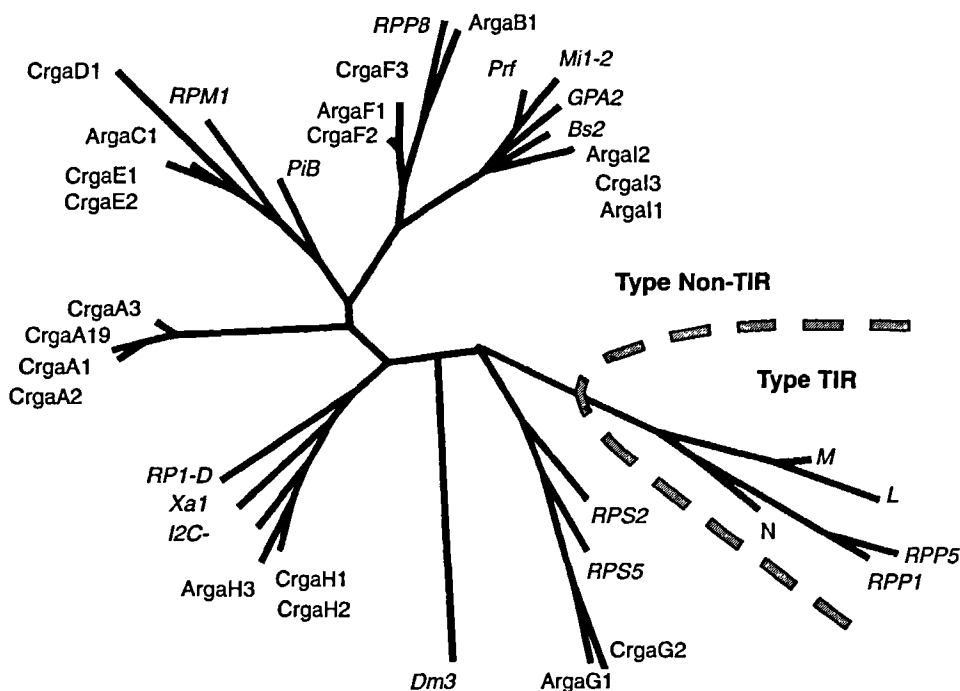


Figure 6

Arbre phylogénétique (méthode du Neighbor-Joining) des séquences peptidiques (région NBS) des AGR de caféiers (en romain) et des principaux gènes de résistance (en italique) clonés (Noir *et al.*, 2001).

■ Possibilités d'introgession de *C. arabica* par les espèces diploïdes

Le croisement et l'obtention d'hybrides interspécifiques entre l'espèce tétraploïde *C. arabica* et les espèces diploïdes ne constituent pas un obstacle au transfert de gènes par voie sexuée. Après doublement chromosomique du parent diploïde, des hybrides interspécifiques tétraploïdes relativement fertiles peuvent être obtenus (Van der Vossen, 1985 ; Carvalho, 1988 ; Charrier et Eskes, 1997 ; Couturon *et al.*, 1998). Nous nous sommes donc plus particulièrement intéressés aux modalités de recombinaisons entre génomes de

C. arabica et *C. canephora* au sein de l'hybride interspécifique tétraploïde Arabusta ainsi qu'au sein de lignées d'introggression de *C. arabica* dérivant d'hybrides interspécifiques spontanés entre *C. arabica* et *C. canephora* (i.e. l'Hybride de Timor) ou entre *C. arabica* et *C. liberica* (i.e. S.26).

L'étude des recombinaisons génomiques et chromosomiques a été abordée chez l'hybride Arabusta par l'analyse de plusieurs locus dispersés sur le génome de base des caféiers (Herrera *et al.*, 2001). Pour la plupart, ces locus sont des marqueurs RFLP ou microsatellites (Combes *et al.*, 2000) positionnés sur la carte génétique de *C. canephora* (Paillard *et al.*, 1996 ; Lashermes *et al.*, 2001). On observe une association au hasard des allèles pour des locus situés sur des groupes de liaison différents. Ainsi, la formation et la transmission de gamètes de type parental, *C. arabica* ou *C. canephora*, ne sont pas significativement favorisées au sein de la descendance de l'hybride Arabusta. Par ailleurs, pour quelques groupes de liaison, les recombinaisons chromosomiques ont pu être estimées chez l'Arabusta. On observe une fréquence significative de recombinaisons génétiques, que ce soit entre les deux sous-génomes constitutifs de *C. arabica* ou entre le génome de *C. canephora* et les deux sous-génomes de *C. arabica*. Bien que des analyses plus approfondies soient nécessaires, l'hybride Arabusta semble présenter un double intérêt en tant que « pont » pour le transfert de caractères utiles de *C. canephora* vers *C. arabica*, mais aussi en rendant possible les recombinaisons entre les deux sous-génomes de *C. arabica*.

Près d'une centaine de lignées d'introggression de *C. arabica* ont été analysées à l'aide de marqueurs AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism). Bien que variable selon la lignée considérée (fig. 7), on observe généralement un nombre important de marqueurs introgressés provenant de *C. canephora* ou *C. liberica* au sein de ces lignées (Bertrand *et al.* 2001 ; Lashermes *et al.*, 2000 b ; Prakash *et al.*, 2001). De plus, l'analyse de la distribution de ces marqueurs parmi les lignées suggère des événements de recombinaisons génétiques au sein des fragments chromosomiques introgressés. Toutefois, la distribution génomique et le devenir de ces introgressions au cours des générations de rétrocroisements ainsi que leur impact sur la fertilité et la qualité du café produit par les génotypes arabica introgressés restent à étudier.

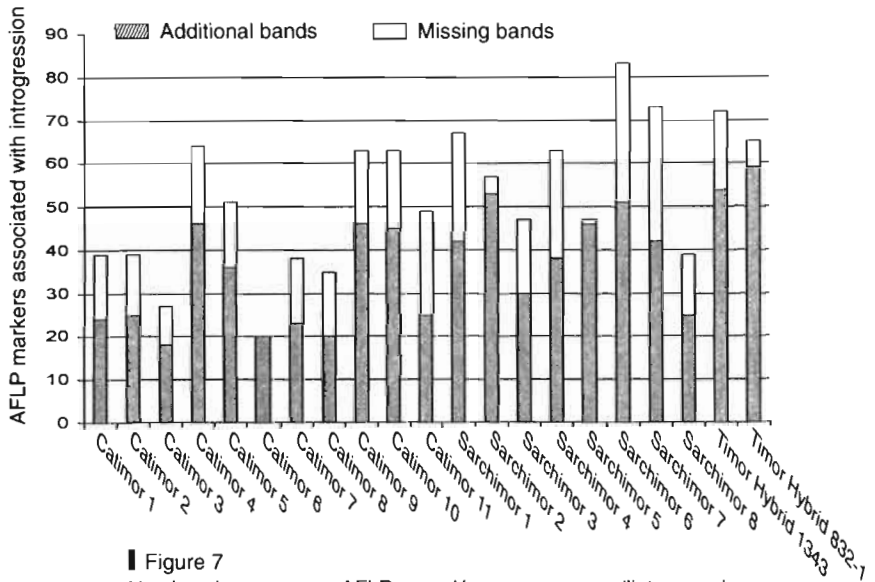


Figure 7

Nombre de marqueurs AFLP associés au processus d'introgression au sein de différentes lignées dérivées d'un hybride interspécifique spontané (i.e. l'hybride de Timor) entre *C. arabica* et *C. canephora* (Lashermes *et al.*, 2000 b). Deux types de marqueurs sont distingués : les bandes additionnelles (i.e. jamais observées chez *C. arabica*) et les bandes absentes (i.e. toujours présentes chez *C. arabica*).

Conclusions

La valorisation intensive et rationnelle des ressources génétiques implique le développement de nouvelles méthodes intégrant de manière pertinente l'avancement des connaissances scientifiques. Notamment, le contrôle du processus de recombinaison génétique apparaît de plus en plus comme l'élément clé des stratégies d'introgression. Les situations facilitant les recombinaisons génétiques doivent être recherchées afin de dissocier les gènes à introgresser, des gènes ou structures défavorables à éliminer. Chez le caféier comme chez la plupart des espèces cultivées, une meilleure compréhension des mécanismes régissant les recombinaisons génétiques entre génomes (notamment à l'échelle interspécifique)

apparaît donc indispensable au développement de stratégies efficaces d'introgresion. La mise en évidence d'un contrôle génétique des appariements chez *C. arabica* constitue une étape importante. Toutefois, des études complémentaires sont nécessaires afin de préciser son déterminisme génétique, son mode d'action et l'origine de son inhibition chez l'hybride Arabusta.

L'identification par des marqueurs moléculaires des zones chromosomiques à introgresser présente aussi un grand intérêt (Melchinger, 1990 ; Young, 1999). Notamment, le développement de sélection assistée par marqueurs permet de prévoir la valeur génétique d'un individu sans évaluation du caractère ciblé, et de diriger la combinaison du maximum de segments favorables dans un même génotype. De plus, les marqueurs moléculaires donnent la capacité de détecter les rares individus chez lesquels les associations défavorables ont pu être rompues par recombinaison génétique. Dans le cas du caféier *Arabica*, l'étude et l'identification de gènes de résistance aux maladies et ravageurs présentent un intérêt considérable. Le développement de programme de sélection assistée par marqueurs est en cours de réalisation. À plus long terme, le clonage de gènes de résistance ainsi que leur transfert par transgénése sont aussi envisagés. Les connaissances sur les mécanismes et gènes de résistance d'un certain nombre de plantes ou organismes « modèles » (e.g. *Arabidopsis*, Glazebrook *et al.*, 1997 ; Meinke *et al.*, 1998) ont fortement progressé au cours des dernières années. L'utilisation de ces informations offre de nouvelles perspectives pour une plante comme le caféier et devrait permettre des avancées importantes.

Bibliographie

Anthony F, Astorga C, Berthaud J 1999 — Los recursos genéticos : Las bases de una solución genética a los problemas de la caficultura latinoamericana. In *Desafíos de la caficultura centroamericana*, B Bertrand, B Rapidel eds. Ilica, San José, 369-406.

Anthony F, Bertrand B, Quiros O, Wilches A, Lashermes P, Berthaud J, Charrier A 2001 — Genetic diversity of wild coffee (*Coffea arabica* L.) using molecular markers. *Euphytica* 118 : 53-65.

Bertrand B, Aguilar G, Santacreo R, Anzueto F 1999 —

- El mejoramiento genetico en América Central. In *Desafíos de la caficultura centroamericana*.
B Bertrand, B Rapidel eds. IICA, San José, 407-456.
- Bertrand B, Anthony F, Lashermes P 2001 —
Breeding for resistance to *Meloidogyne exigua* of *Coffea arabica* by introgression of resistance genes of *Coffea canephora*. Plant Pathology (sous presse).
- Carvalho A 1988 —
Principles and practices of coffee plant breeding for productivity and quality factors: *Coffea arabica*. In *Coffee vol 4 : Agronomy*. RJ Clarke, R Macrae eds. Elsevier Applied Science, London, 129-165.
- Charrier A, Eskes AB 1997 —
Les caféiers. In *L'amélioration des plantes tropicales*. Charrier A, Jacquot M, Hamon S, Nicolas D eds., collection Repères, coédition Cirad-Orstom, Paris, 171-196.
- Clegg MT, Zurawski G 1992 —
Chloroplast DNA and the study of plant phylogeny: present status and future prospects. In *Molecular systematics of plants*. Soltis PS, Soltis DE, Doyle JJ eds. Chapman and Hall, New York, 1-13.
- Combes MC, Andrzejewski S, Anthony F, Bertrand B, Rovelli P., Graziosi G, Lashermes P 2000 —
Characterisation of microsatellite loci in *Coffea arabica* and related coffee species. *Molecular Ecology* 9 : 1178-1180.
- Couturon E, Lashermes P, Charrier A 1998 —
First intergeneric hybrids (*Psilanthus ebracteolatus* H. x *Coffea arabica* L.) in coffee-trees. *Can J of Bot* 76 : 542-546.
- Cros J, Combes MC, Trouslot P, Anthony F, Hamon S, Charrier A, Lashermes P 1998 —
Phylogenetic analysis of chloroplast DNA variation in *Coffea* L. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 9 : 109-117.
- Ellis J, Dodds P, Pryor T 2000 —
Structure, function and evolution of plant disease resistance genes. *Cur Opi Plant Biol* 3 : 278-284.
- Glazebrook J, Rogers EE, Ausubel FM 1997 —
Use of *arabidopsis* for genetic dissection of plant defense responses. *Ann Rev Genet* 31 : 547-569.
- Grassias M 1980 —
Étude de la fertilité et du comportement méiotique des hybrides interspécifiques *Arabusta Coffea arabica* x *C. canephora* (thèse). Université de Paris-XI (Orsay), France.
- Grassias M, Kammacher P 1975 —
Observations sur la conjugaison chromosomique de *Coffea arabica* L. *Café Cacao Thé* 19 : 177-190.
- Guerrero Filho O, Silvarolla MB, Eskes AB 1999 —
Expression and mode of inheritance of resistance to leaf miner *Perileuoptera coffeella*. *Euphytica* 105 : 7-15.
- Hammond-Kosack KE, Jones JDG 1997 —
Plant disease resistance genes. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 48 : 575-607.
- Herrera JC, Combes MC, Anthony F, Charrier A, Lashermes P 2001 —
Introgression into the allotetraploid coffee (*Coffea arabica* L.): Segregation and recombination of the *C. canephora* genome in the tetraploid interspecific hybrid (*C. arabica* X *C. canephora*). *Theor Appl Genet* (soumis pour publication).

- Lashermes P, Andrzejewski S, Bertrand B, Combes MC, Dussert S, Grasiozi G, Trouslot P, Anthony F 2000b — Molecular analysis of introgressive breeding in coffee (*C. arabica*). *Theor Appl Genet* 100 : 139-146.
- Lashermes P, Combes MC, Robert J, Trouslot P, D'hont A, Anthony F, Charrier A 1999 — Molecular characterisation and origin of the *Coffea arabica* L. genome. *Molecular & General Genetics* 261 : 259-266.
- Lashermes P, Combes MC, Trouslot P, Charrier A 1997 — Phylogenetic relationships of coffee-tree species (*Coffea* L.) as inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *Theor Appl Genet* 94 : 947-955.
- Lashermes P, Combes MC, Prakash NS, Trouslot P, Lorieux M, Charrier A 2001 — Genetic linkage map of *Coffea canephora*: effect of segregation distortion and analysis of recombination rate in male and female meioses. *Genome* (sous presse).
- Lashermes P, Cros J, Combes MC, Trouslot P, Anthony F, Hamon S, Charrier A 1996 — Inheritance and restriction fragment length polymorphism of chloroplast DNA in the genus *Coffea* L. *Theor Appl Genet* 93 : 626-632.
- Lashermes P, Paczek V, Trouslot P, Combes MC, Couturon E, Charrier A 2000a — Single-locus inheritance in the allotetraploid *Coffea arabica* L. and interspecific hybrid *C. arabica* x *C. canephora*. *J of Heredity* 91 : 81-85.
- Meinke DW, Cherry JM, Deam C, Rounsley SD, Koorneef M 1998 — *Arabidopsis thaliana*: a model plant for genome analysis. *Science* 282 : 662-682.
- Melchinger AE 1990 — Use of molecular markers in breeding for oligogenic disease resistance. *Plant Breed* 104 : 1-19.
- Meyers BC, Dickerman AW, Michelmore RW, Sivaramakrishnan S, Sobral BW, Young ND 1999 — Plant disease resistance genes encode members of an ancient and diverse protein family within the nucleotide-binding superfamily. *Plant J* 20 : 317-332.
- Noir S, Combes MC, Anthony F, Lashermes P 2001 — Origin, diversity and evolution of NBS-type disease-resistance gene homologues in coffee trees (*Coffea* L.). *Mol Gen Genomics* 265 (4) : 654-662..
- Noir S, Lashermes P 2000 — Organisation et évolution des gènes de résistance chez les plantes. *In* Les ressources génétiques, quel futur ? S Hamon ed, Cahiers de l'Agriculture 8 : 301-309.
- Paillard M, Lashermes P, Pétiard V 1996 — Construction of a molecular linkage map in coffee. *Theor Appl Genet* 93 : 41-47.
- Pan Q, Wendel J, Fluhr R 2000 — Divergent evolution of plant NBS-LRR resistance gene homologues in dicot and cereal genomes. *J Mol Evol* 50 : 203-213.
- Prakash NS, Combes MC, Somanna N, Lashermes P 2001 — AFLP analysis of introgression in coffee cultivars (*Coffea arabica* L) derived from a natural interspecific hybrid. *Euphytica* (sous presse).
- Richter TE, Ronald PC 2000 — The evolution of disease resistance genes. *Plant Mol Biol* 42 : 195-204.

Shen KA, Meyers BC,
Islam-Faridi MN, Chin DB,
Stelly DM, Michelmore W 1998 —
Resistance Gene Candidates
identified by PCR with
degenerate oligonucleotide primers
map to clusters of resistance genes
in lettuce. *Mol Plant Microbe Interact*
11 : 815-823.

Van der Vossen HAM 1985 —
Coffee selection and breeding.

*In Coffee: Botany, biochemistry and
production of beans and beverage.*
MN Clifford, KC Wilson eds,
Croom Helm, London, Sydney, 48-97.

Young ND 1999 —
A cautiously optimistic vision
for marker-assisted selection.
Mol Breed 5 : 505-510.

Young ND 2000 —
The genetic architecture of resistance.
Cur Opin Plant Biol 3 : (4) 285-290.