

ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA MỘT SỐ GIỐNG SỞ (*Camellia* sp) Ở VIỆT NAM

GENETIC DIVERSITY OF SOME *CAMELLIA* SP VARIETIES IN VIETNAM

Summary

38 *Camellia* sp varieties collected from different ecological areas in Vietnam have specific morphological characteristics. The authors have used 50 RAPD primers to analyze the genetic diversity of 38 *Camellia* sp varieties, in which 24 RAPD primers have given out polymorphic results. A total of 4092 bands belonging to 164 band types have been obtained in all the 38 varieties, in which 108 band types are polymorphic (65.85%) and 56 band types are monomorphic (34.15%). The average of the multiplied bands by 24 primers is 170.5 bands per primer. The genetic similarity coefficient of 38 *Camellia* sp varieties ranges from 0.58 to 0.94. Based on genetic similarity coefficient, 38 *Camellia* sp varieties have been divided into seven big groups. The research has also identified the three 3 unique bands observed in 3 primers that can be used to define exactly 3 different genetic resources. The OPO5, UBC708 and S208 primers can be used to identify ND12, ND35 and HT3 varieties respectively. The obtained results are useful for classification and exact identification of some genetic resources served for the conservation and breeding.

Key words: *Camellia* sp, genetic diversity, RAPD marker.

TS KHUẤT HỮU TRUNG, ThS KIỀU THỊ DUNG

Viện Di truyền Nông nghiệp

TS HOÀNG VĂN THẮNG, ThS NGUYỄN KIM TRUNG

Viện Nghiên cứu Lâm sinh

38 mẫu giống Sở được thu thập tại các vùng sinh thái khác nhau ở Việt Nam đều có các điểm đặc trưng riêng về hình thái. Sử dụng 50 môi RAPD để phân tích đa dạng di truyền của các mẫu giống Sở thu được 24 môi cho kết quả đa hình. Kết quả phân tích PCR nhận lên được tổng số 4.092 băng thuộc 164 loại băng, trong đó có 108 băng cho đa hình (chiếm 65,85%) và 56 băng đơn hình (chiếm 34,15%). Số băng nhận lên trung bình cho cả 24 môi là 170,5 băng/môi. Hệ số tương đồng di truyền của các mẫu giống Sở dao động từ 0,58 đến 0,94. Dựa vào hệ số tương đồng di truyền có thể chia 38 mẫu giống nghiên cứu thành 7 nhóm lớn. Kết quả nghiên cứu cũng đã xác định được 3 băng cá biệt xuất hiện ở 3 môi có thể sử dụng làm marker nhận dạng chính xác 3 nguồn gen khác nhau. Mỗi OPO5, UBC708 và S208 có thể nhận biết được 3 mẫu giống tương ứng là ND12, ND35 và HT3. Các kết quả thu được rất hữu ích phục vụ công tác phân loại, nhận dạng chính xác một số nguồn gen phục vụ công tác bảo tồn và lai tạo giống.

Từ khoá: *Camellia*, đa dạng di truyền, chỉ thị RAPD.

Mở đầu

Cây Sở (*Camellia* sp) là tên gọi chung của các loài có hàm lượng dầu trong nhân tương đối cao thuộc chi *Camellia*, họ *Theaceae*. Các sản phẩm từ Sở rất phong phú, giá trị sử

dụng cũng như giá trị kinh tế cao, dầu tinh luyện từ hạt Sở có thể được dùng làm dầu ăn, sản xuất mỹ phẩm, dược phẩm, hay trong công nghiệp. Ở Trung Quốc, dầu Sở được coi là một trong những nguồn cung cấp dầu

ăn quan trọng bởi giá trị dinh dưỡng cao, trông và chế biến dầu ăn từ cây Sở có ý nghĩa quan trọng nhằm giảm lượng nhập khẩu dầu ăn hàng năm của nước này.

Chi *Camellia* có tới 300 loài và hơn

3.000 giống đang được trồng trên toàn thế giới, trong đó có hơn 2.500 giống đã được định danh (Prince và Parks, 2000). Theo Samartin (1992), loài được gọi là *C. sasanqua* (ở các nước châu Âu) và *C. sasanqua oil* (được gọi phổ biến trên thế giới) đều là một và có tên chính xác là *C. sasanqua* Thunb. Việc mô tả đặc điểm hình thái cây Sở cũng được nghiên cứu khá tỉ mỉ, đây là cơ sở quan trọng để phân biệt Sở với các loài cây khác cùng chi với nó. Tuy nhiên, loài này có nhiều đặc điểm giống với các loài *C. oleifera* và *C. japonica* nên việc phân loại thường hay nhầm lẫn.

Ở Việt Nam chưa có nhiều nghiên cứu về việc phân loại Sở, nên chưa xác định chính xác được tất cả các loài Sở trên cả nước, mà chỉ định danh được một số giống dựa vào các đặc điểm hình thái, như lá và quả Sở. Nhiều khi do gọi tên theo hình dạng quả hoặc tên địa phương nên có sự nhầm lẫn giữa tên giống này với giống khác, nhất là những dòng, giống có năng suất hạt và hàm lượng dầu cao. Bên cạnh đó, việc di chuyển các giống Sở để gây trồng giữa các vùng khác nhau đã gây ra sự nhầm lẫn và hiểu sai về mối quan hệ di truyền giữa các giống Sở. Để góp phần vào nghiên cứu chọn giống, xác định nguồn gốc và mối quan hệ di truyền của một số mẫu giống Sở trên các vùng sinh thái khác nhau, việc nghiên cứu đa dạng di truyền một số giống Sở (*Camellia* sp) ở Việt Nam bằng kỹ thuật RAPD là rất cần thiết.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Vật liệu được sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền là 38 mẫu giống Sở, bao gồm các mẫu giống Sở ổi, Sở thị, Sở chè, Sở lê, Sở đào, Sở cam, Sở lựu, Sở quýt, Sở cảnh mề Trung Quốc được thu thập từ các tỉnh Quảng Ninh, Lai Châu, Phú Thọ, Lạng Sơn, Thanh Hóa và Nghệ An (bảng 1).

Bảng 1: danh sách các mẫu giống Sở đã thu thập để phân tích

STT	Ký hiệu	Địa điểm thu mẫu	Giống Sở
1	HT1	Thôn Kim Sơn, xã Hà Đông, huyện Hà Trung, tỉnh Thanh Hóa	Sở ổi
2	HT2		Sở thị
3	HT3		Sở thị
4	HT4		Sở ổi
5	HT5		Sở ổi
6	HT6		Sở ổi
7	NĐ35 (NA15)	Thôn Bình Minh, xã Nghĩa Lộc, huyện Nghĩa Đàn, tỉnh Nghệ An	Sở chè
8	NĐ14	Thôn Sơn Hải, xã Nghĩa Lộc, huyện Nghĩa Đàn, tỉnh Nghệ An	Cảnh mề Trung Quốc
9	NĐ16		
10	NĐ1	Thôn Bình Minh, xã Nghĩa Lộc, huyện Nghĩa Đàn, tỉnh Nghệ An	Sở chè
11	NA1		
12	NĐ31		
13	NĐ12	Thôn Sơn Hải, xã Nghĩa Lộc, huyện Nghĩa Đàn, tỉnh Nghệ An	Cảnh mề Trung Quốc
14	TY4	Vườn Trần Văn Quế, thôn Bản Cải, xã Phong Dụ, Tiên Yên, Quảng Ninh	Sở lựu
15	TY9	Vườn Trần Văn Nghiêm, thôn Bản Cải, xã Phong Dụ, Tiên Yên, Quảng Ninh	Sở lê
16	TY7		Sở lựu
17	TY14		Sở lựu
18	TY6	Vườn Bế Văn Quyền, thôn Bản Cải, xã Phong Dụ, Tiên Yên, Quảng Ninh	Sở lê
19	TY2		Sở lựu
20	SH11	Xã Xà Dề Phìn, huyện Sìn Hồ, tỉnh Lai Châu	Sở lê
21	SH32		Sở lê
22	SH42		Sở đào
23	SH43		Sở cam
24	SH6		Sở lê
25	SH41		Sở lê
26	SH25		Sở chè
27	TN1	Bùi Văn Quý, thôn Da Áo, xã Thanh Uyên, huyện Tam Nông, tỉnh Phú Thọ	Sở cam
28	TN3		Sở cam
29	TN4 (trùng cây trội)		Sở cam
30	TN6		Sở lựu
31	TN7		Sở lựu
32	TN8	Thôn Na Háo, xã Yên Trạch, huyện Cao Lộc, tỉnh Lạng Sơn	Sở chè
33	CL1		Sở quýt
34	CL2		Sở quýt
35	CL4		Sở quýt
36	CL5		Sở chè
37	CL6		Sở cam
38	CL7		Sở lựu

Hóa chất

Sử dụng một số hóa chất đang được dùng thông dụng trong sinh học phân tử của các hãng Sigma, Merck: CTAB, Tris base, Boric acid, NaCl, dNTPs, EDTA, 6X orange loading dye solution, Taq polymeraza, Ethanol, 2-propanol, Acetic acid glacial, Phenol, Chloroform, Isoamylalcohol, Ribonuclease A, Agarose, các môi RAPD.

Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết ADN tổng số: áp dụng phương pháp sử dụng CTAB của P. Obara-Okeyo và Kako (1998) có bổ sung Natribisunfit và PVP để tiến hành tách chiết ADN từ 38 mẫu giống nghiên cứu.

Chạy PCR: các phản ứng PCR được thực hiện theo chu trình nhiệt: 94°C (5 phút), 35-37 chu kỳ [94°C (1 phút); 32-36°C (1 phút 10s), 72°C (1 phút 50s)] và kết thúc ở 72°C (5 phút).

Phân tích và xử lý số liệu: kết quả được thống kê dựa vào sự xuất hiện hay không xuất hiện của các băng ADN (các allele) theo thang ADN chuẩn (ADN marker). Số liệu được xử lý, phân tích bằng chương trình Exel version 5.0 và phần mềm NTSYSpc 2.1 của F.J. Rohlf (1997) để tính ma trận tương đồng giữa các cặp mẫu giống.

Kết quả và thảo luận

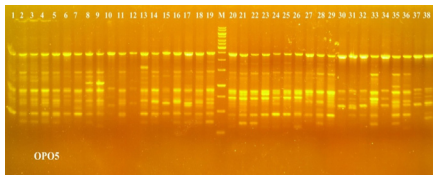
Kết quả phân tích PCR-RAPD với tổng số 50 môi thuộc các nhóm UBC, OPA, OPC, BIO, OPO, OPN, OPE, OPK, OPAH và nhóm S cho thấy có 24 môi cho đa hình rõ rệt là các môi: OPA1, OPA3, OPE18, OPN12, OPN15, OPO5, OPO11, OPO12, S201, S208, S216, S239, S256, OPC2, OPC5, UBC702, UBC708, BIO24, BIO27, BIO28, OPK8, OPK19, OPL12 và OPAH17. Các môi còn lại cho kết quả đơn hình hoặc đa hình không rõ ràng (bảng 2).

Bảng 2: thống kê số băng thu được trên từng môi

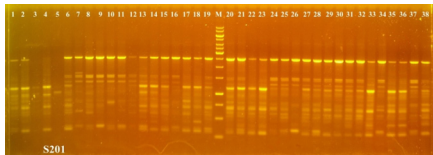
STT	Tên môi	Kích thước băng	Loại băng	Số băng đơn hình	Số băng đa hình	% băng đơn hình	% băng đa hình	Tổng số băng
1	BIO24	700-2200	7	6	1	85,7	14,3	264
2	BIO27	300-1700	8	1	7	12,5	87,5	166
3	BIO28	600-3200	9	0	9	0,0	100,0	118
4	OPA1	600-1400	2	0	2	0,0	100,0	42
5	OPA3	500-1600	8	3	5	37,5	62,5	252
6	OPAH17	250-600	3	0	3	0,0	100,0	100
7	OPC2	300-1400	9	2	7	22,2	77,8	242
8	OPC5	300-1500	5	3	2	60,0	40,0	184
9	OPE18	500-1800	8	3	5	37,5	62,5	182
10	OPK19	250-1600	9	6	3	66,7	33,3	245
11	OPK8	400-1000	5	1	4	20,0	80,0	58
12	OPL12	400-1700	7	5	2	71,4	28,6	262
13	OPN12	500-1500	6	1	5	16,7	83,3	131
14	OPN15	300-1100	5	2	3	40,0	60,0	134
15	OPO11	350-1400	7	2	5	28,6	71,4	158
16	OPO12	300-1700	7	3	4	42,9	57,1	140
17	OPO5	300-2500	11	2	9	18,2	81,8	231
18	S201	300-2500	11	0	11	0,0	100,0	233
19	S208	500-1900	7	3	4	42,9	57,1	161
20	S216	600-1400	5	3	2	60,0	40,0	157
21	S239	300-1500	5	3	2	60,0	40,0	151
22	S256	750-2000	4	3	1	75,0	25,0	151
23	UBC702	350-900	8	3	5	37,5	62,5	146
24	UBC708	350-2000	8	1	7	12,5	87,5	184
Tổng			164	56	108			4.092

Kết quả phân tích tính đa hình bằng kỹ thuật PCR-RAPD với 24 môi nhân lên được tổng số 4.092 băng thuộc 164 loại băng có kích cỡ khác nhau. Trong đó có 108 băng cho đa hình, chiếm 65,85%; 56 băng đơn hình, chiếm 34,15%. Kích thước băng có chiều dài nhỏ nhất khoảng 250 bp và băng có kích thước lớn nhất khoảng 3.200 bp. Xuất hiện 3 băng cá biệt, trong đó mỗi OPO5 thu được tổng số 231 băng và ở mẫu ND12 (mẫu 13) xuất hiện băng cá biệt ở vị trí có

kích thước khoảng 1.700 bp. Mỗi UBC708 nhân lên được 184 băng và ở mẫu giống ND35 xuất hiện một băng cá biệt, băng khuyết ở vị trí có kích thước khoảng 900 bp. Mỗi S208 nhân lên được 161 băng và ở mẫu giống HT3 xuất hiện một băng cá biệt ở vị trí có kích thước khoảng 400 bp. Mỗi BIO24 nhân lên được tổng số băng nhiều nhất là 264 băng. Mỗi OPA1 nhân lên được số băng ít nhất là 42 băng. Số băng nhân lên trung bình cho cả 24 môi là 170,5 băng/môi.



Hình 1: kết quả điện di sản phẩm RAPD-PCR của 38 mẫu giống nghiên cứu với đoạn mỗi OPO5 (M: marker 1kb)

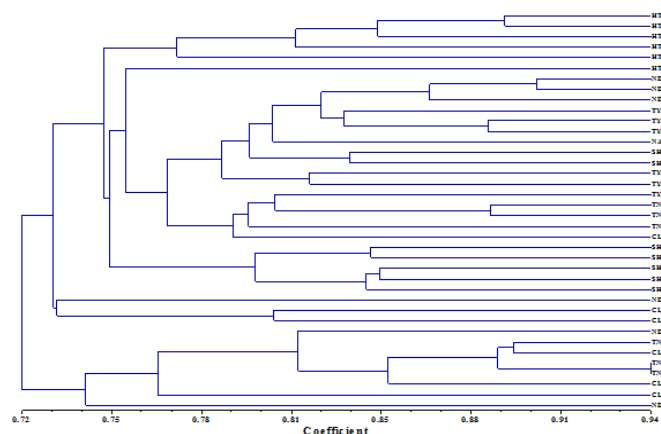


Hình 2: kết quả điện di sản phẩm RAPD-PCR của 38 mẫu giống nghiên cứu với đoạn mỗi S201 (M: marker 1kb)

So sánh kết quả nghiên cứu này với một số kết quả về chi *Camellia* đã được công bố trên thế giới cho thấy tỷ lệ bằng đa hình trong nghiên cứu này là 65,85%, thấp hơn so với 4 nghiên cứu còn lại như trong bảng 3. Tuy nhiên, tổng số băng thu được lại rất cao (4.092) và số băng trung bình/mỗi là 170,5 băng.

TT	Tác giả	Số giống	Số chỉ thị	Tổng số băng thu được	% băng đa hình	Số băng trung bình/mỗi
1	Liaghong Chen et al 2005	8	20	344	74,4	-
2	Li Xing-hui et al 2006	23	11	135	91,11	-
3	Wang et al 2011	15	15	1.935	77	-
4	Shefali Boonerjee et al 2013	18	20	755	97,41	37,75
5	Nghiên cứu này	38	24	4.092	65,85%	170,5

Bảng 3: một số kết quả phân tích đa dạng di truyền sử dụng chỉ thị RAPD của các giống thuộc chi *Camellia* đã được công bố



Hình 3: sơ đồ mối quan hệ di truyền giữa các mẫu giống *Sở* nghiên cứu

Hệ số tương đồng di truyền giữa 38 mẫu giống nghiên cứu dao động trong khoảng 0,58 đến 0,94. Hai cặp mẫu giống (ND31-SH42) và (ND35-CL1) có mức sai khác di truyền lớn nhất (hệ số tương đồng di truyền nhỏ nhất là 0,58). Hai mẫu TN7 và TN8 có hệ số tương đồng cao nhất (gần gũi về mặt di truyền nhất) là 0,94, hai mẫu này đều được thu ở thôn Da Áo, xã Thanh Uyên, huyện Tam Nông, tỉnh Phú Thọ. Từ sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền giữa các mẫu *Sở* nghiên cứu cho thấy ở mức tương đồng khoảng 75% (hệ số tương đồng 0,75) có thể chia 38 mẫu giống nghiên cứu thành 7 nhóm lớn:

- **Nhóm I:** gồm 5 mẫu giống là HT1, HT2, HT3, HT4 và HT5 có hệ số tương đồng dao động từ 0,75 (giữa HT1 và HT5) đến 0,89 (giữa HT1 và HT2). 5 mẫu giống này đều được thu ở thôn Kim Sơn, xã Hà Đông, huyện Hà Trung, tỉnh Thanh Hóa.

- **Nhóm II:** gồm 17 mẫu giống được chia làm 3 nhóm phụ:

- **Nhóm phụ 2.1:** gồm duy nhất mẫu giống HT6.

- **Nhóm phụ 2.2:** gồm 11 mẫu giống là ND35, ND14, ND16, TY7, TY14, TY6, NA1, SH11, SH32, TY4 và TY9. Trong số 11 mẫu giống của nhóm này có 4 mẫu giống là ND35, ND14, ND16, NA1 có nguồn gốc ở Nghệ An và có hệ số tương đồng di truyền với nhau dao động từ 0,80 (giữa NA1 và ND16) đến 0,90 (giữa ND35 và ND14). Các mẫu giống TY7, TY14, TY6, TY4 và TY9 có nguồn gốc từ Quảng Ninh và có hệ số tương đồng với nhau dao động từ 0,79 (giữa TY4 và TY7) đến 0,89 (giữa TY14 và TY6). Hai mẫu giống SH11 và SH32 có nguồn gốc từ Lai Châu và có hệ số tương đồng di truyền với nhau là 0,84. Giữa các mẫu trong 2 nhóm có nguồn gốc ở Nghệ An và Lai Châu có hệ số tương đồng dao động từ 0,78 (giữa SH11 và ND35) đến 0,82 (giữa SH32 và ND14). Giữa các mẫu trong 2 nhóm có nguồn gốc ở Nghệ An và Quảng Ninh có hệ số tương đồng dao động từ 0,72 (giữa TY9 và ND35) đến 0,86 (giữa TY7 và ND14). Như vậy mẫu giống ND14, SH32 và TY7 được thu thập ở 3 tỉnh khác nhau nhưng có hệ số tương đồng với nhau là khá cao (0,82 và 0,86).

- **Nhóm phụ 2.3** gồm 5 mẫu giống là TY2, TN3, TN4, TN1 và CL1. Mẫu giống TY2 (nguồn gốc từ Quảng Ninh) có hệ số tương đồng với 3 mẫu giống TN3, TN4, TN1 (có nguồn gốc từ Phú Thọ) dao động từ 0,78 (giữa TY2 và TN4) đến 0,84 (giữa TY2 và TN3). Mẫu giống CL1 (nguồn gốc từ Lạng Sơn) có hệ số tương đồng với 3 mẫu giống TN3, TN4, TN1 (có nguồn gốc từ Phú Thọ) dao động từ 0,79 (giữa CL1 và TN3) đến 0,80 (giữa CL1 và TN1; giữa CL1 và TN3). Mẫu giống CL1 và TY2 có hệ số tương đồng với nhau là 0,79. Ba mẫu giống TN3, TN4, TN1 cùng có nguồn gốc từ Phú Thọ có hệ số tương đồng dao

động từ 0,79 (giữa TN1 và TN4) đến 0,89 (giữa TN3 và TN4). Như vậy 2 mẫu giống TY2 và TN3 có nguồn gốc thu thập khác nhau nhưng có hệ số tương đồng khá cao là 0,84. Hai mẫu giống TN1 và TN4 có cùng nguồn gốc từ Phú Thọ nhưng có hệ số tương đồng với nhau là 0,79.

• **Nhóm III:** gồm 5 mẫu giống là SH42, SH43, SH6, SH25 và SH41 đều có nguồn gốc từ Lai Châu. Hai cặp mẫu giống (SH41 - SH43) và (SH25 - SH43) có hệ số tương đồng khá thấp là 0,77 và 0,78. Hai mẫu giống SH6 và SH42 có hệ số tương đồng di truyền là 0,8. Ba cặp mẫu giống (SH25 - SH42); (SH41 - SH42) và (SH6 và SH43) có hệ số tương đồng di truyền 0,82. Ba cặp mẫu giống (SH42 - SH43); (SH6 - SH41) và (SH25 - SH41) có hệ số tương đồng di truyền 0,84. Hai mẫu giống SH6 và SH25 có hệ số tương đồng di truyền là 0,85.

• **Nhóm IV:** gồm duy nhất mẫu ND12, có hệ số tương đồng với các mẫu cùng có nguồn gốc từ Nghệ An dao động khá thấp, từ 0,69 (giữa ND12 và ND35) đến 0,78 (giữa ND12 và NA1). Mẫu giống ND12 có hệ số tương đồng với các mẫu còn lại dao động từ 0,66 (giữa ND12 và SH43) đến 0,81 (giữa ND12 và TY7).

• **Nhóm V:** gồm 2 mẫu giống CL4 và CL5 có hệ số tương đồng với nhau là 0,81.

• **Nhóm VI:** gồm 7 mẫu giống là ND1, TN6, CL2, TN7, TN8, CL7 và CL6. Mẫu giống ND1 có nguồn gốc từ Nghệ An có hệ số tương đồng khá cao với 3 mẫu giống có nguồn gốc từ Phú Thọ (TN6, TN7, TN8) dao động từ 0,81 (giữa ND1 và TN8) đến 0,84 (giữa ND1 và TN6). Mẫu ND1 có hệ số tương đồng với 3 mẫu giống có nguồn gốc từ Lạng Sơn (CL2, CL6, CL7) dao động từ 0,77 (giữa ND1 và CL6); 0,78 (giữa ND1 và CL7) đến 0,83 (giữa ND1 và CL2). Ba mẫu

giống có nguồn gốc từ Phú Thọ (TN6, TN7, TN8) có hệ số tương đồng với nhau khá cao, dao động từ 0,88 (giữa TN6 và TN8) đến 0,94 (giữa TN7 và TN8).

• **Nhóm VII:** gồm duy nhất mẫu giống ND31 có nguồn gốc từ Nghệ An, mẫu giống này có hệ số tương đồng khá thấp với các mẫu có cùng nguồn gốc ở Nghệ An, dao động từ 0,63 (giữa ND16 và ND31) đến 0,76 (giữa ND1 và ND31). Mẫu giống ND31 có hệ số tương đồng di truyền với các mẫu giống còn lại dao động từ 0,58 (giữa 2 cặp mẫu giống SH42 - ND31 và CL1 - ND31) đến 0,77 (giữa CL6 và ND31).

Kết luận

Kết quả thực hiện 912 phản ứng PCR - RAPD với 24 mẫu ngẫu nhiên trên tổng số 38 mẫu giống Sở thu thập từ các tỉnh đã thu được tổng số 4.092 băng thuộc 164 loại băng có kích cỡ khác nhau, trong đó có 108 băng cho đa hình (chiếm 65,85%), 56 băng đơn hình (chiếm 34,15%). Từ đó, đã thiết lập được bảng hệ số tương đồng di truyền và sơ đồ cây phát sinh chủng loại về mối quan hệ di truyền của các mẫu giống Sở ở nhiều địa phương, vùng sinh thái khác nhau của Việt Nam. Ở mức tương đồng khoảng 75%, 38 mẫu giống nghiên cứu được chia thành 7 nhóm cách biệt di truyền.

Sử dụng 3 môi OPO5, UBC708 và S208 có thể nhận biết được 3 mẫu giống Sở tương ứng là ND12 (Sở cảnh mềm Trung Quốc, Nghệ An), ND35 (Sở chè bản địa, Nghệ An) và HT3 (Sở thị, Thanh Hóa) ✍

Tài liệu tham khảo

1. Hoàng Văn Thắng, Nguyễn Quang Khải, Nguyễn Bá Văn, Bùi Thanh Hằng, Nguyễn Văn Thịnh (2010): Nghiên cứu chọn giống và biện pháp kỹ thuật trồng rừng Sở thâm canh cho vùng Tây Bắc, Đông Bắc và Bắc Trung Bộ. Báo cáo tổng

kết đề tài, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.

2. Bera B. and Saikia H. (2002). Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) marker analysis in tea (*Camellia sinensis* L.) generative clones. Proceedings of the 15th Plantation Crops Symposium Placrosym XV, Mysore, India, pp. 235-238.

3. Li X., Zhang C. and Liu C. (2007). RAPD Analysis of the genetic diversity in chinese tea germplasm. *Aata horticulturae sinica*, V34(2) pp 507-508.

4. Lianghong C., Shizhou W. and Mack N. (2005). Genetic diversities within *Camellia* species confirmed by random amplified polymorphic DNA (RAPD) Markers. *HortScience*, vol. 40 no. 4 1105.

5. Obara O.P. and Kako S. (1998). Genetic diversity and identification of *Cymbidium* cultivars as measured by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Euphytica* 99, pp. 95-1001.

6. Prince L. and Parks C.R. (2000). Estimation on relationships of *Theoi-deae* (Theaceae) inferred from DNA Data. *Int Camellia J32*: 79-93.

7. Rohlf F. (1997). NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, 2.1 edn, Department of Ecology and Evolution, State University of NY, Stony Brook.

8. Samartin A. (1992). Potential for large scale in vitro propagation of *Camellia sansaqua* Thunb. *Journal of Horticultural Science*, 67 (2) pp 211-217.

9. Shefali B., Islam M.N., Hoque M.I. and Sarker R.H. (2013). Genetic diversity analysis of eighteen tea (*Camellia sinensis* L.) clones of bangladesh through RAPD. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, Vol 23, No 2.

10. Shiv S.K., Alexander Z. and Young G.P. (2000). Evaluation of the genetic diversity among elite tea (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) accessions using RAPD markers. *Euphytica*, Volume 115, Issue 1, pp 7-16.

11. Wang X.F., Zheng H.Y., Zheng W.H., Ao C.Q., Jin H.Y., Zhao L.H., Li N. and Jia L.R. (2011). RAPD-based genetic diversities and correlation with morphological traits in *Camellia* (Theaceae) cultivars in China. *Genet.Mol. Res.* 10 (2): 849-859.