

## การตรวจเอกสาร

ปรง (Cycad) เป็นกลุ่มพืชเมล็ดเปลือย (gymnosperm) ที่มีชีวิตอยู่อย่างต่อเนื่องมาตั้งแต่สมัยดึกดำบรรพ์ พบมากในบริเวณเขตร้อน (tropical) และกึ่งเขตร้อน (subtropical) ปัจจุบันมีปรงอยู่ 250 ชนิด จัดอยู่ใน 3 วงศ์ (families) คือ Cycadaceae, Stangeriaceae และ Zamiaceae และจำแนกย่อยออกไปได้ 11 สกุล (genera) คือ *Cycas*, *Stangeria*, *Lepidozamia*, *Macrozamia*, *Encephalartos*, *Dioon*, *Microcycas*, *Ceratozamia*, *Zamia*, *Bowenia* และ *Chigua* (Stevenson, 1992) ปรงมีรูปร่างสวยงาม ใบเป็นแบบใบประกอบขนนก (Brenner *et al.*, 2003) และเป็น dioecious กล่าวคือต้นเพศผู้และเพศเมียแยกกันอยู่คนละต้น มีการสืบพันธุ์โดยการกระจายของเมล็ด และเมล็ดอยู่ในอวัยวะสืบพันธุ์ที่เรียกว่าโคน (cone) โดยโคนจะไม่ถูกห่อหุ้มด้วยรังไข่

### การจัดจำแนกปรง

ในสมัยโบราณปรงทุกชนิดถูกจัดอยู่ในวงศ์ Cycadaceae เพียงวงศ์เดียวเท่านั้น ต่อมา Johnson (1959) ใช้ลักษณะโครงสร้างของใบปรงที่ทำหน้าที่สร้างสปอร์ (sporophylls) และลักษณะใบประกอบแบบขนนกในการจำแนกชนิดของปรงซึ่งสามารถแยกความแตกต่างระหว่างปรง 3 วงศ์ คือ Cycadaceae (สกุล *Cycas*), Stangeriaceae (สกุล *Stangeria*) และ Zamiaceae (สกุล *Lepidozamia*, *Macrozamia*, *Encephalartos*, *Dioon*, *Microcycas*, *Ceratozamia*, *Zamia* และ *Bowenia*) ออกจากกันได้ นอกจากนี้ยังได้จำแนกวงศ์ Zamiaceae ออกเป็น 3 tribes คือ tribe Dioeae ประกอบด้วยปรงสกุล *Dioon* เท่านั้น ปรงในกลุ่มนี้ถือได้ว่าเป็นที่เก่าแก่มากที่สุด และ tribe Encephalarteae ประกอบด้วยปรงสกุล *Lepidozamia*, *Macrozamia* และ *Encephalartos* นับเป็นกลุ่มปรงที่มีวิวัฒนาการมากกว่าปรงกลุ่มอื่น ส่วน tribe Zamieae ประกอบด้วยปรงสกุล *Microcycas*, *Ceratozamia*, *Zamia* และ *Bowenia* การจัดจำแนกปรงโดยวิธีของ Johnson ได้รับการยอมรับต่อเนื่องมาเป็นเวลานาน จนกระทั่ง Stevenson (1981) ได้นำเสนอการจำแนกปรงออกเป็น 4 วงศ์ คือ Cycadaceae, Stangeriaceae, Zamiaceae และ Boweniaceae โดยใช้ลักษณะทางวิวัฒนาการร่วมกับสัณฐานวิทยาทำให้ปรงสกุล *Bowenia* ถูกจัดอยู่ในวงศ์ Boweniaceae นอกจากนี้ยังรายงานว่ามีปรงในวงศ์ Cycadaceae เป็นกลุ่มปรงที่มีวิวัฒนาการต่ำที่สุด ต่อมา Stevenson (1985) ได้จำแนกปรงออกเป็น 2 suborder คือ suborder Zamiineae ประกอบด้วยกลุ่มปรงในวงศ์ Stangeriaceae และ Boweniaceae ส่วน suborder Cycadineae

ประกอบด้วยกลุ่มปรงในวงศ์ Cycadaceae และ Zamiaceae และรายงานว่ปรงในวงศ์ Zamiaceae ยังจำแนกย่อยออกเป็น 2 subfamily คือ Diooideae และ Zamioideae รายงานการจำแนกชนิดของปรงส่วนใหญ่ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นหลัก ซึ่งวิธีการดังกล่าวอาจได้ผลไม่แน่นอนนัก เนื่องจากลักษณะที่เห็นจากภายนอกมีความแปรผันไปตามอิทธิพลของสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะปรงบางชนิดมีลักษณะที่คล้ายคลึงกันมาก จึงยากที่จะบ่งชี้ความแตกต่างได้อย่างชัดเจน ด้วยเหตุนี้ Stevenson (1992) จึงได้นำเอาลักษณะทางกายวิภาคร่วมกับสัณฐานวิทยามาใช้ปรับปรุงการจำแนกปรง ทำให้เป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวางจนถึงปัจจุบันนี้ ปรงทั้ง 3 วงศ์จำแนกได้ดังนี้

#### Order Cycadales

##### Suborder Cycadineae

##### Family Cycadaceae

##### Genus *Cycas*

##### Suborder Zamiineae

##### Family Stangeriaceae

##### Subfamily Encephalartoideae

##### Genus *Stangeria*

##### Subfamily Bowenioideae

##### Genus *Bowenia*

##### Family Zamiaceae

##### Subfamily Encephalartoideae

##### Tribe Diooeae

##### Genus *Dioon*

## Tribe Encephalarteae

## Subtribe Encephalartinae

Genus *Encephalartos*

## Subtribe Macrozamiinae

Genus *Macrozamia* and *Lepidozamia*

## Subfamily Zamioideae

## Tribe Ceratozamiaceae

Genus *Ceratozamia*

## Tribe Zamieae

## Subtribe Microcycadinae

Genus *Microcycas*

## Subtribe Zamiinae

Genus *Zamia* and *Chigua*

Hill (1999) ศึกษาพืชมีเมล็ดในกลุ่ม Peltaspermales และ Meddalosales พบว่าเป็นพืชมีเมล็ดเปลือย (gymnosperm) และจากหลักฐานทางฟอสซิลพบว่ามีลักษณะคล้ายคลึงกับพืชในกลุ่ม ginkgo และคล้ายคลึงกับปรงด้วย โดยดูจากรูปแบบการเจริญเติบโต mannoxylic wood จำนวนใบ ระบบท่อลำเลียงน้ำและอาหารภายในเมล็ด แต่มีลักษณะบางประการ คือลักษณะทางสัณฐานวิทยาและโครงสร้างของละอองเรณูไม่เหมือนกันกับปรง ดังนั้นจึงไม่สามารถสรุปได้ว่าพืชมีเมล็ดทั้งสองกลุ่มนี้และปรงมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากนักน้อยเพียงใด ส่วนพืชมีเมล็ดในกลุ่ม Bennettiales ถูกจัดอยู่ใน Division Cycadophyta เช่นเดียวกับปรงและเรียกพืชในกลุ่มนี้ว่า Cycadeoid ซึ่งเป็นกลุ่มเดียวที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกับปรงทุกประการ ถึงแม้ว่ามีอวัยวะสืบพันธุ์ที่คล้ายคลึงกับพืชมีดอกมากกว่าก็ตาม ข้อมูลนี้สอดคล้องกับรายงานของ Chaw *et al.* (1997) ที่ใช้ลำดับดีเอ็นเอของยีน 18S RNA ศึกษาวิวัฒนาการของกลุ่มพืชมีเมล็ดเปลือยและกลุ่มพืชมีเมล็ดชนิดอื่นๆ พบว่าปรงมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับพืชในกลุ่ม ginkgo มากที่สุด

หลังจากการค้นพบปรองหลายชนิดซึ่งมีลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกันมาก อีกทั้งยังมีลักษณะคล้ายคลึงกับกลุ่มพืชมีเมล็ดหลายชนิด การจำแนกสายพันธุ์ของปรองจึงทำได้ยาก ด้วยเหตุนี้จึงมีการใช้ข้อมูลด้านต่างๆ มาปรับใช้ เช่น Dossaji *et al.* (1975) นำวิธี chemotaxonomy มาใช้ตรวจสอบสาร biflavonoids ของปรอง 82 ชนิดใน 3 วงศ์ และ 10 สกุล ทำให้สามารถแยกปรองในระดับวงศ์ได้ พบว่าปรองในวงศ์ *Stangeriaceae* เพียงวงศ์เดียวเท่านั้นที่ไม่พบสาร biflavonoids ส่วนกลุ่มปรองในวงศ์ *Zamiaceae* ไม่พบสาร hinokiflavone แต่พบในปรองซึ่งอยู่ในวงศ์ *Cycadaceae* และ *Stangeriaceae* ต่อมา Meurer-Grimers and Stevenson (1994) ทำการตรวจสอบสาร biflavonoids ของปรอง 32 ชนิดใน 3 วงศ์ และ 11 สกุล พบสาร hinokiflavone ในปรองสกุล *Zamiaceae* มากที่สุด และสาร biflavonoids พบในปรองสกุล *Chigua* แต่สารนี้ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่าง *Ginkgo biloba* และ *Dioon spinolosum* ได้ และจากผลการศึกษาพบว่า *Chigua* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับปรองสกุล *Microcycas* และ *Zamia* มากที่สุด

เทคนิคทางชีวโมเลกุลถูกนำมาใช้เพื่อศึกษาวิวัฒนาการของปรองในระดับดีเอ็นเอ โดย Caputo *et al.* (1991) ใช้เทคนิค Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLP) ศึกษาความสัมพันธ์ในปรอง 6 สกุล ได้แก่ *Cycas*, *Dioon*, *Microcycas*, *Ceratozamia*, *Zamia* และ *Chigua* พบว่าปรองในสกุล *Dioon* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับปรองทุกสกุล ในขณะที่ปรองสกุล *Ceratozamia* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับปรองในสกุล *Microcycas*, *Zamia* และ *Chigua* เท่านั้น ในขณะที่ Zhou *et al.* (1998) ทำการเปรียบเทียบลำดับดีเอ็นเอของยีน 5S rRNA ในคลอโรพลาสต์ของ *Cycas revoluta* กับพืชชนิดอื่นอีก 13 ชนิด พบว่ามีลำดับดีเอ็นเอของยีน 5S rRNA เหมือนกับพืชมีดอก 92-97 % แต่เหมือนกับพืชชั้นต่ำเพียง 54 % ส่วนลำดับดีเอ็นเอของยีน 5S rRNA ในคลอโรพลาสต์ของพืชมีดอกมีความเหมือนกันถึง 95-97 % ต่อมา Hill *et al.* (2003) ศึกษาหาความสัมพันธ์ในปรอง 11 สกุล ได้แก่ *Cycas*, *Stangeria*, *Lepidozamia*, *Macrozamia*, *Encephalartos*, *Dioon*, *Microcycas*, *Ceratozamia*, *Zamia*, *Bowenia* และ *Chigua* วิเคราะห์โดยใช้ลำดับดีเอ็นเอของยีน *rbcl* และ *trnL-F* ในคลอโรพลาสต์ และ internal transcribed spacers (ITS) ในนิวเคลียสร่วมกับการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าปรองทุกสกุลมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน หลังจากนั้น Bogler and Javier (2004) ศึกษาความสัมพันธ์ในปรอง 10 สกุล ได้แก่ *Cycas*, *Stangeria*, *Lepidozamia*, *Macrozamia*, *Encephalartos*, *Dioon*, *Microcycas*, *Ceratozamia*, *Zamia* และ *Bowenia* โดยใช้ลำดับดีเอ็นเอของยีน *trnL* intron ในจีโนมของคลอโรพลาสต์และ internal transcribed spacers ของ ribosomal DNA ในนิวเคลียส

ระหว่าง 5.8S และ 26S ribosomal DNA (ITS2) พบว่าลำดับดีเอ็นเอของยีน *trnL* intron ในปรงทุกสกุลเป็นแบบอนุรักษ์ (conserved region) ในขณะที่ลำดับดีเอ็นเอของ ITS2 มีความแปรผันสูงมาก รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าปรงในสกุล *Cycas* และ *Dioon* มีความแตกต่างจากปรงในสกุลอื่นมากที่สุด ในขณะที่ปรงในสกุล *Stangeria* ไม่มีความสัมพันธ์กับปรงสกุล *Bowenia* แต่มีความใกล้ชิดกับปรงสกุล *Zamia* และ *Microcycas* ส่วนปรงในสกุล *Lepidozamia* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับปรงสกุล *Encephalartos* มากกว่า *Macrozamia* ปรงในสกุล *Microcycas* กับ *Zamia* มีความสัมพันธ์กันมากที่สุด

### จำนวนปรงในสกุล *Zamia*

Hill et al. (2004) ได้รายงานการพบปรงสกุล *Zamia* ชนิดต่างๆ บริเวณตอนเหนือตอนกลาง และตอนใต้ของอเมริกา พบว่ามีทั้งหมด 57 ชนิด ดังนี้ :-

ชนิดของปรง	ถิ่นกำเนิด
1. <i>Z. acuminata</i>	Costa Rica, Nicaragua, North Panama
2. <i>Z. amazonum</i>	Brazil, Colombia (Amazonas, Choco), Ecuador, Peru, South Venezuela
3. <i>Z. amblyphyllidia*</i>	Cuba, Jamaica, Puerto Rico
4. <i>Z. amplifolia</i>	Colombia (Valle)
5. <i>Z. angustifolia*</i>	Bahamas
6. <i>Z. boliviana</i>	North Bolivia, Brazil
7. <i>Z. chigua</i>	Colombia (Choco), Panama (Chiriqui)
8. <i>Z. cremnophila</i>	Mexico (Tabasco)
9. <i>Z. cunaria</i>	Panama
10. <i>Z. disodon</i>	Colombia (Antioquia), Peru (Huanuco)
11. <i>Z. dressleri</i>	Panama
12. <i>Z. elegantissima</i>	Panama
13. <i>Z. encephalartoides*</i>	Colombia (Santander), Ecuador (Esmeraldes)

ชนิดของปรอง	ถิ่นกำเนิด
14. <i>Z. fairchildiana</i> *	Costa Rica, Panama
15. <i>Z. fischeri</i> *	Mexico (Queretaro, San Luis Potosi)
16. <i>Z. furfuracea</i> *	Mexico (Veracruz)
17. <i>Z. gentryi</i>	Ecuador
18. <i>Z. herrerae</i> *	El Salvador, Guatemala, Honduras, Mexico (Chiapas)
19. <i>Z. hymenophyllidia</i>	Colombia (Amazonas), Peru (Loreto)
20. <i>Z. inermis</i> *	Mexico (Veracruz)
21. <i>Z. integrifolia</i> *	Bahamas, Cayman, Islands, Cuba, USA (Florida, Georgia)
22. <i>Z. ipetiensis</i>	Panama
23. <i>Z. kickxii</i>	Cuba
24. <i>Z. lacandona</i>	Mexico (Chiapas)
25. <i>Z. lecointei</i>	Brazil, Colombia (Antioquia, Amazonas), Peru (Loreto), South Venezuela
26. <i>Z. loddigesii</i> *	Guatemala, Mexico (Hidalgo, Oaxaca, Veracruz)
27. <i>Z. macrochiera</i>	Peru
28. <i>Z. manicata</i> *	Colombia (Antioquia), Panama (Darien)
29. <i>Z. melanorrhachis</i>	Colombia (Amazonas, Cordoba, Meta, Santander)
30. <i>Z. montana</i>	Colombia (Antioquia)
31. <i>Z. monticola</i> *	Guatemala
32. <i>Z. muricata</i> *	Colombia (Boyaca, Guajira, Meta, Santander), Venezuela (Guarico)

ชนิดของปรง	ถิ่นกำเนิด
33. <i>Z. neurophyllidia</i> *	Costa Rica, South Nicaragua, North Panama
34. <i>Z. obliqua</i> *	Colombia (Antioquia, Choco, Valle), South Panama
35. <i>Z. oligodonta</i>	Colombia
36. <i>Z. paucijuga</i>	Mexico
37. <i>Z. poeppigiana</i> *	Brazil, Colombia (Huila, Meta, Tolima), Ecuador, Peru
38. <i>Z. polymorpha</i> *	Belize , Mexico (Campeche, Quintana Roo, Yucatan)
39. <i>Z. portoricensis</i> *	Puerto Rico
40. <i>Z. prasina</i>	Belize
41. <i>Z. pseudomonticola</i> *	West Costa Rica
42. <i>Z. pseudoparasitica</i>	North Panama
43. <i>Z. pumila</i> *	Cuba, Dominican Republic, Puerto Rico
44. <i>Z. purpurea</i> *	Mexico (Oaxaca, Veracruz)
45. <i>Z. pygmaea</i> *	Cuba (West Cuba, Isla de la Juventud)
46. <i>Z. roezlii</i> *	Colombia (Amazonas, Choco, Narino, Valle, Ecuador)
47. <i>Z. skinneri</i> *	Central Panama, Panama
48. <i>Z. soconuscensis</i>	Mexico (Chiapas)
49. <i>Z. spartea</i>	Mexico (Oaxaca)
50. <i>Z. standleyi</i> *	Honduras
51. <i>Z. tuerckheimii</i> *	Guatemala
52. <i>Z. ulei</i>	West Brazil, Colombia, Ecuador, Peru
53. <i>Z. urep</i>	Peru
54. <i>Z. variegata</i> *	Guatemala, Mexico (Chiapas)
55. <i>Z. vazquezii</i> *	Mexico (Veracruz)

ชนิดของปรง	ถิ่นกำเนิด
56. <i>Z. verschaffeltii</i>	Mexico (Chiapas)
57. <i>Z. wallisii</i>	Colombia (Antioquia)

**หมายเหตุ** ชื่อปรงที่พิมพ์ตัวเข้มและมีสัญลักษณ์ \* คือชนิดของปรงที่นำมาใช้ในการวิจัย  
รวมทั้งหมด 28 ชนิด ยกเว้น *Z. lucayana* และ *Z. sp.* ที่ไม่มีข้อมูลในตาราง



**ภาพที่ 1** การแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ของปรงสกุล *Zamia*  
ที่มา : Jones (1993)

### ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปรงสกุล *Zamia*

ปรงสกุล *Zamia* จัดอยู่ในลำดับ Cycadales วงศ์ Zamiaceae เป็นพืชที่มีลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกับพืชกลุ่มเฟิร์น เป็นไม้พุ่มเจริญอยู่บนดินหรืออาศัยอยู่บนพืชชนิดอื่น ลักษณะลำต้นของปรงสกุล *Zamia* แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือลำต้นทรงกระบอกอยู่บนดิน (aborescent) และลำต้นอยู่ใต้ดิน (subterranean) (Jones, 1998) ส่วนใบเป็นใบประกอบแบบขนนก ลักษณะของใบมีทั้งแบบตรงและโค้งงอ ใบย่อยบริเวณด้านล่างของใบประกอบไม่ลดรูปกลายเป็นหนาม ก้านใบมีหูใบและล้อมรอบด้วยหนาม ใบย่อยมีหลายรูปแบบ อาจมีรูปร่างเป็นรูปไข่กลับ (obovate) รูปเข็ม (linear) รูปหอก (lanceolate) รูปรี (elliptical) รูปขอบขนาน (oblong) หรือรูปไข่ (ovate) ก็ได้ เส้นใบย่อยชัดเจนแต่ไม่มีเส้นกลางใบ ขอบใบย่อยเรียบหรือล้อมรอบด้วยหนามที่มีลักษณะฟันเลื่อยหรือรอยหยัก (Stevenson, 2004 b) ส่วนปลายของใบย่อยมีลักษณะแหลมคม (acute) เรียวแหลม (acuminate) หรือกลมมน (obtuse) ก้านใบย่อยไม่มีหนามและแกนกลางของใบก็ไม่มีหนามเช่นกัน โดยส่วนใหญ่โคนมีรูปร่าง ขนาด และสีที่แตกต่างกัน โคนเพศผู้ (male cone) อาจมีอันเดียวหรือหลายอันต่อดัน มีรูปร่างทรงกระบอกเป็นแท่ง (cylindrical) เรียวเล็ก ตั้งตรง มีก้านขนาดสั้น ส่วนโคนเพศเมีย (female cone) มีขนาดใหญ่ รูปร่างเป็นรูปไข่ (ovoid) รูปทรงกระบอกกลม (barrel shaped) หรือทรงกระบอกเป็นแท่ง (cylindrical) และมีขนสั้นมาก ปกคลุม รวมทั้งบริเวณฐานโคนมีก้านเช่นกัน (Jones, 1998)

### การจัดจำแนกและการศึกษาวิวัฒนาการของปรงสกุล *Zamia*

ปรงในสกุล *Zamia* ถูกนำเสนอครั้งแรกในปี ค.ศ. 1763 โดยนักวิทยาศาสตร์ชื่อ Carl von Linnaeus (Jones, 1998) ต่อมา Stevenson (1986) รายงานการพบปรงสกุล *Zamia* ทั้งหมด 47 ชนิด ในขณะที่ Sabato (1990) ได้รายงานการพบปรงสกุล *Zamia* ชนิดต่างๆ บริเวณฟลอริดา อินเดียทางตะวันตก เม็กซิโก ตอนเหนือ ตอนกลาง และตอนใต้ของทวีปอเมริกา หลังจากนั้น Earle (2001) รายงานว่าปรงสกุล *Zamia* 37 ชนิด มีการกระจายพันธุ์อยู่บริเวณฟลอริดา เปอโตริโก เม็กซิโก ตอนกลางและตอนใต้ของทวีปอเมริกาจนถึงโบลิเวีย นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบปรงในสกุล *Zamia* ชนิดใหม่ในหลายงานวิจัย โดย Stevenson (2004 a) รายงานว่าปรงในสกุล *Zamia* มี 55 ชนิด พบบริเวณตอนเหนือ ตอนกลาง และตอนใต้ของทวีปอเมริกา ในขณะที่ Hill *et al.* (2004) รายงานการพบปรงสกุล *Zamia* ทั้งหมด 57 ชนิดซึ่งมีการกระจายพันธุ์อยู่บริเวณตอนเหนือ ตอนกลางและตอนใต้ของทวีปอเมริกาเช่นเดียวกัน

จากการค้นพบปรงสกุล *Zamia* ในปี ค.ศ. 1763 ทำให้ทราบว่าปรงเป็นพืชที่มีวิวัฒนาการมายาวนานตั้งแต่สมัยดึกดำบรรพ์ ดังนั้นจึงมีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านให้ความสนใจและรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับฟอสซิลของปรงสกุล *Zamia* เพื่อศึกษาต้นกำเนิดและวิวัฒนาการของปรงในสกุลนี้ เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาปรงสกุล *Zamia* ชนิดต่างๆ ที่พบในปัจจุบัน โดย Berry (n.d.) ได้รายงานการพบฟอสซิลของปรงสกุล *Zamia* ในบริเวณต่างๆ ได้แก่ *Z. australis* มีการกระจายพันธุ์บริเวณ Rio Negro ประเทศอาร์เจนตินาในตอนใต้ของทวีปอเมริกา ส่วน *Z. mississippiensis*, *Z. tennesseana* และ *Z. wilcoxensis* พบในเมือง Lauderdale บริเวณแม่น้ำ Mississippi ในตอนเหนือของทวีปอเมริกา และอธิบายลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Z. mississippiensis* และ *Z. wilcoxensis* ว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Z. pumila* ในขณะที่ *Z. tennesseana* มีลักษณะของใบย่อยคล้ายกับใบย่อยของ *Z. angustifolia* ต่อมา Egelhardt (n.d.) รายงานว่าฟอสซิลของปรงสกุล *Zamia* คือ *Z. tertiaris* มีการกระจายพันธุ์บริเวณตอนใต้ของทวีปอเมริกา ในขณะที่ Hollick (n.d.) รายงานการพบ *Z. collazoensis* และ *Z. noblei* บริเวณแม่น้ำ Collazo ประเทศเปอโตริโก ในตอนกลางของทวีปอเมริกา โดย *Z. collazoensis* มีลักษณะที่คล้ายคลึงกับ *Z. angustifolia* ส่วน *Z. noblei* มีลักษณะคล้ายคลึงกับ *Z. pumila*

การจำแนกปรงสกุล *Zamia* ในสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกันโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยานั้นทำได้ยาก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาในระดับโครโมโซมและรูปแบบแคริโอไทป์ โดย Norstog (1980) ศึกษาจำนวนโครโมโซมของ *Z. paucijuga* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม  $2n = 23, 24, 25, 26, 27$  และ  $28$  จำนวนโครโมโซมทุกชุดมีรูปแบบแคริโอไทป์ของโครโมโซมชนิดซั่มเมทาเซนทริกและอะโครเซนทริก ชนิดละ 2 โครโมโซม ( $2SM + 2A$ ) ส่วนรูปแบบแคริโอไทป์ของโครโมโซมชนิดซั่มเมทาเซนทริกและชนิดที่โลเซนทริกแตกต่างกันขึ้นอยู่กับจำนวนโครโมโซมที่แตกต่างกัน เช่น พบว่าพวกที่มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 23$  แคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดซั่มเมทาเซนทริก 5 โครโมโซมและชนิดที่โลเซนทริก 14 โครโมโซม ( $5M + 14T$ ) ในขณะที่จำนวนโครโมโซม  $2n = 24$  แคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดซั่มเมทาเซนทริก 4 โครโมโซมและชนิดที่โลเซนทริก 16 โครโมโซม ( $4M + 16T$ ) อธิบายได้ว่าการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซมมีผลกับการลดลงของโครโมโซมชนิดซั่มเมทาเซนทริก 1 โครโมโซมและในทางตรงกันข้ามมีผลกับการเพิ่มขึ้นของโครโมโซมชนิดที่โลเซนทริก 2 โครโมโซม ในขณะที่ Moretti (1990) ศึกษาจำนวนโครโมโซมและแคริโอไทป์ของปรง 4 สกุลในวงศ์ *Zamiaceae* ที่มีการกระจายพันธุ์อยู่บริเวณตอนเหนือและตอนกลางของทวีปอเมริกาเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบความคล้ายคลึงรวมไปจนถึงหาความสัมพันธ์ทาง

วิวัฒนาการ พบว่าปรงสกุล *Zamia* มีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของแคโริโอไทป์ ส่วนปรงสกุล *Microcycas*, *Ceratozamia* และ *Dioon* ไม่มีการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบว่า แคโริโอไทป์ของปรงสกุล *Zamia* ทุกชนิดมีจำนวนโครโมโซมชนิดซับบเมทาเซนทริกและชนิดอะโครเซนทริกเท่ากัน แต่แตกต่างกันในจำนวนโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกและชนิดทีโลเซนทริกโครโมโซม ต่อมา Caputo *et al.* (1996) ศึกษาจำนวนโครโมโซมและแคโริโอไทป์เพื่อหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของปรงสกุล *Zamia* 4 ชนิด ได้แก่ *Z. manicata*, *Z. ipetiensis*, *Z. cunaria* และ *Z. acuminata* พบว่า *Z. manicata* มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 18$  แคโริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 8 โครโมโซม ซับบเมทาเซนทริก 4 โครโมโซม อะโครเซนทริก 2 โครโมโซม และทีโลเซนทริก 4 โครโมโซม ( $8M+4SM+2A+4T$ ) ส่วน *Z. ipetiensis* มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 23$  แคโริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 3 โครโมโซม ซับบเมทาเซนทริก 4 โครโมโซม อะโครเซนทริก 2 โครโมโซม และทีโลเซนทริก 14 โครโมโซม ( $3M+4SM+2A+14T$ ) และ *Z. cunaria* มีจำนวนโครโมโซมต่างกัน 2 แบบ คือ  $2n = 23$  และ  $2n = 24$  ในกรณีที่มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 23$  แคโริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 3 โครโมโซม ซับบเมทาเซนทริก 4 โครโมโซม อะโครเซนทริก 2 โครโมโซม และทีโลเซนทริก 14 โครโมโซม ( $3M+4SM+2A+14T$ ) ส่วนในกรณีที่มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 24$  แคโริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 2 โครโมโซม ซับบเมทาเซนทริก 4 โครโมโซม อะโครเซนทริก 2 โครโมโซม และทีโลเซนทริก 16 โครโมโซม ( $2M+4SM+2A+16T$ ) ส่วน *Z. cunaria* มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 24$  แคโริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 2 โครโมโซม ซับบเมทาเซนทริก 4 โครโมโซม อะโครเซนทริก 2 โครโมโซม และทีโลเซนทริก 16 โครโมโซม ( $2M+4SM+2A+16T$ ) รวมทั้งพบด้วยว่าปรงแต่ละชนิดมีจำนวนโครโมโซมและรูปแบบแคโริโอไทป์แตกต่างกันและปรงทั้ง 4 ชนิดมีความสัมพันธ์กันมาก ซึ่งแตกต่างกับรายงานของ Vovides and Olivares (1996) เกี่ยวกับแคโริโอไทป์ที่แสดงภาวะพหุสัณฐาน (polymorphism) ใน *Z. loddigesii* โดยพบว่าปรงชนิดนี้มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 17, 24, 25, 26$  และ  $27$  ความแตกต่างของแคโริโอไทป์และจำนวนโครโมโซมพบเฉพาะในบางชนิด รวมทั้งจำนวนของโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกและการแบ่งตัวของเซนโทรเมียร์ที่เป็นชนิดทีโลเซนทริกแตกต่างกันด้วย การแปรผันของแคโริโอไทป์อาจจะเกิดจากการแยกตัวของเซนโทรเมียร์ (centric fission) หรือเกิดจากการรวมตัวของเซนโทรเมียร์ (centric fusion) นอกจากนี้อาจเกิด pericentric inversion และ unequal translocation แสดงว่า *Z. loddigesii* มีวิวัฒนาการของแคโริโอไทป์เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและเป็นไปอย่างรวดเร็วจากรายงานการวิจัยต่างๆ ที่ศึกษาจำนวนโครโมโซมของปรงสกุล *Zamia* แสดงให้เห็นว่าปรงสกุล

นี้มีจำนวนโครโมโซมที่แตกต่างกันมากตั้งแต่  $2n = 16$  ไปจนถึงมีจำนวนโครโมโซม  $2n = 22, 23, 24, 25, 26, 27$  และ  $28$  (Norstog and Nicholls, 1997) นอกจากนี้ Tagashira and Kondo (1999) ได้ศึกษาเปรียบเทียบแคโรไทป์ในปรงสกุล *Zamia* ได้แก่ *Z. angustifolia*, *Z. integrifolia*, *Z. pumila*, *Z. pygmaea*, *Z. furfuracea*, *Z. loddigesii*, *Z. skinneri*, *Z. muricata* และ *Z. vazquezii* โดยใช้การย้อมสีออริจีนและวิธีการย้อมสีเรืองแสงด้วย Chromomycin A<sub>3</sub> (CMA) และ 4,6-diaminido-2-phenylindole (DAPI) พบว่า *Z. angustifolia*, *Z. integrifolia*, *Z. pumila* และ *Z. pygmaea* มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 16$  แคโรไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 12 โครโมโซม ซับเมทาเซนทริก 2 โครโมโซม และอะโครเซนทริก 2 โครโมโซม มีแถบที่ให้ผลเชิงบวกกับสี CMA ในบริเวณเซนโทรเมียร์ของโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 2 โครโมโซม ซับเมทาเซนทริก 2 โครโมโซม และอะโครเซนทริก 2 โครโมโซม ส่วน *Z. furfuracea*, *Z. loddigesii*, *Z. skinneri* และ *Z. vazquezii* มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 18$  ส่วนแคโรไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 10 โครโมโซม และซับเมทาเซนทริก 2 โครโมโซม แต่มี 6 โครโมโซมที่แตกต่างจากกลุ่ม *Z. furfuracea* และ *Z. loddigesii* มีแถบแบบที่ให้ผลเชิงบวกกับสี CMA ในบริเวณเซนโทรเมียร์ของโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 8 โครโมโซมและอะโครเซนทริก 6 โครโมโซม ส่วนใน *Z. skinneri* มีแถบที่ให้ผลเชิงบวกกับสี CMA ในบริเวณเซนโทรเมียร์ของโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก 4 โครโมโซมและทีโลเซนทริก 2 โครโมโซม ในขณะที่ *Z. vazquezii* มีแถบที่ให้ผลเชิงบวกกับสี CMA ในบริเวณเซนโทรเมียร์ของโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 4 โครโมโซมและทีโลเซนทริก 6 โครโมโซม ใน *Z. muricata* มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 23$  แตกต่างจากพวกแรก แคโรไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 7 โครโมโซม และซับอะโครเซนทริก 16 โครโมโซม จากการศึกษาปรงสกุล *Zamia* ทั้ง 9 ชนิด พบว่าการเกิดแถบและมีแถบที่ให้ผลเชิงบวกกับสี DAPI ไม่ชัดเจน พบที่บริเวณตำแหน่งเซนโทรเมียร์ โดยมีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับ *Ceratozamia* ที่มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 16$  และมีแถบที่ให้ผลเชิงบวกกับสี CMA ในบริเวณปลายโครโมโซม 6 โครโมโซม หลังจากนั้น เมธานี (2546) ศึกษาเปรียบเทียบแคโรไทป์ของเซลล์ระหว่างเพศผู้และเพศเมียของปรงสกุล *Cycas* และ *Zamia* จากการศึกษาปรงทั้งสองสกุล พบว่าปรงสกุล *Cycas* มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ  $2n = 22$  ส่วนปรงในสกุล *Zamia* ชนิดต่างๆ มีจำนวนโครโมโซมแปรผันดังนี้ *Z. integrifolia*, *Z. pumila* และ *Z. pygmaea* มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 16$  *Z. vazquezii* มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 18$  *Z. monticola* มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 21$  *Z. herrerae* มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 24$  และ *Z. muricata* ในเพศผู้และเพศเมียมีจำนวนโครโมโซมไม่เท่ากัน ในเพศผู้มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 23$  ส่วนในเพศเมียมีจำนวนโครโมโซม

$2n = 18$  และ  $24$  ถ้าพิจารณาแคโรไทป์ในแง่ของจำนวนและตำแหน่งของแซเทลไลต์รวมทั้งจำนวนโครโมโซมในเซลล์ร่างกายจะจัดเป็น 4 กลุ่ม ซึ่งใช้บ่งชี้เพศของปรองในสกุล *Zamia* บางชนิดได้ดังนี้ (1) ความแตกต่างระหว่างเพศผู้ที่เป็นเฮเทอโรมอร์ฟิกกับเพศเมียที่เป็นโฮโมมอร์ฟิก ได้แก่ *Z. pumila* (2) ความแตกต่างระหว่างเพศผู้ที่เป็นเฮเทอโรมอร์ฟิกกับเพศเมียที่ไม่มีแซเทลไลต์ ได้แก่ *Z. vazquezii* (3) ความแตกต่างของจำนวนโครโมโซมในเซลล์ร่างกายในเพศผู้และเพศเมีย ได้แก่ *Z. muricata* (4) ไม่มีความแตกต่างอย่างเด่นชัดของแคโรไทป์ในเพศผู้และเพศเมีย ได้แก่ *Z. herrerae*, *Z. integrifolia*, *Z. monticola* และ *Z. pygmaea* ในขณะที่ สจ๊ (2547) ใช้เทคนิค Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) หาคความหลากหลายทางพันธุกรรมและแยกลักษณะเพศผู้และเพศเมียในปรองสกุล *Cycas* และ *Zamia* จากผลการศึกษาพบไพรเมอร์จำนวน 10 คู่ จากทั้งหมดจำนวน 64 คู่ ให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน 356 แถบ และพบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับปรองแต่ละสกุล นอกจากนี้ยังพบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับเพศผู้และเมียของปรองในบางชนิดโดยที่แถบดีเอ็นเอดังกล่าวไม่สามารถใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่บ่งชี้ลักษณะของเพศผู้และเมียในปรองทุกชนิดของทั้งสองสกุลได้ เมื่อนำผลที่ได้มาสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogenetic tree) สามารถจัดกลุ่มปรองออกเป็น 4 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 เป็นปรองสกุล *Cycas* กลุ่มที่ 2 เป็นปรองสกุล *Zamia* ที่มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 16$  กลุ่มที่ 3 เป็นปรองสกุล *Zamia* ที่มีจำนวนโครโมโซมมากกว่า  $2n = 16$  และกลุ่มที่ 4 เป็นปรองสกุล *Zamia* ที่มีโครโมโซมแบบอนิวพลอยดี (aneuploid) ซึ่งสอดคล้องกับการจัดกลุ่มด้วยวิธี PCA (Principal Component Analysis) และมีค่า PIC (Polymorphic Information Contents) มีค่าระหว่าง 0 ถึง 0.5 โดย 196 markers มีค่า PIC อยู่ในช่วง 0.45-0.50 ค่าเฉลี่ย PIC เท่ากับ 0.41 จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าปรองสกุล *Cycas* และ *Zamia* มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง

ข้อมูลด้านเซลล์และโมเลกุลถูกนำมาใช้เพื่อจัดจำแนกชนิดของปรอง โดยมีรายงานการวิจัยหลายกลุ่ม เช่น Nairn and Ferl (1988) ศึกษาลำดับดีเอ็นเอของยีนใน small-subunit rRNA ใน *Z. pumila* พบว่าลำดับดีเอ็นเอของยีนใน small-subunit rRNA ของ *Z. pumila* เหมือนกับพืชมีดอก 92 % ในขณะที่ Cafasso *et al.* (2003) ใช้วิธี Southern blotting ศึกษาบริเวณลำดับซ้ำของดีเอ็นเอ (highly repetitive DNA) ในนิวเคลียสของ *Z. paucijuga* พบว่าบริเวณลำดับซ้ำของดีเอ็นเอมีการเรียงตัวของรูปแบบ คือ รูปแบบที่มีการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ (tandem array) และอยู่อย่างกระจัดกระจาย (dispersed elements) ต่อมา Caputo *et al.* (2004) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปรองในสกุล *Zamia* ทั้งหมด 22 ชนิด และปรองในสกุล *Chigua* กับ *Microcycas*

จากข้อมูลลำดับเบสของ internal transcribed spacer 2 ของ ribosomal DNA ในนิวเคลียส ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา แล้วสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogenetic tree) พบว่าสามารถแยกตัวอย่างของปรังในสกุล *Zamia* ออกเป็นสองกลุ่ม โดยกลุ่มแรก ประกอบด้วยชนิดที่มีการกระจายพันธุ์อยู่บริเวณตอนกลางของทวีปอเมริกา ส่วนกลุ่มที่สองพบในเม็กซิโก อินเดียนทางตะวันตก และตอนใต้ของทวีปอเมริกา จากผลการศึกษพบว่าปรังสกุล *Chigua*, *Microcycas* และ *Zamia* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน

### Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

เทคนิค RAPD ถูกนำเสนอครั้งแรกในปี ค.ศ. 1990 (Williams *et al.*, 1990) เป็นเทคนิคทาง PCR (Polymerase Chain Reaction) นำมาใช้ในการจำแนกสิ่งมีชีวิตออกเป็นกลุ่มหรือชนิดโดยอาศัยหลักการแยกดีเอ็นเอ หลักการของ RAPD คือการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากดีเอ็นเอต้นแบบโดยการสุ่มด้วยไพรเมอร์ขนาดสั้นประมาณ 10 นิวคลีโอไทด์ (Van, 2000) เทคนิคนี้สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ดีเอ็นเอเพื่อหาความหลากหลายทางพันธุกรรมและนำมาใช้จัดจำแนกสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ เช่น แบคทีเรีย โปรโตซัว เห็ดรา แมลง พืช สัตว์ และมนุษย์ รวมทั้งเป็นเทคนิคที่สามารถหาความสัมพันธ์และวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต ตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรมในประชากร นอกจากนี้ยังเป็นเทคนิคที่สามารถตรวจสอบยีนได้หลายตำแหน่ง (Adam, 1999; Sharma and Jana, 2002) และยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการทำแผนที่ยีนได้อีกด้วย (Harris, 1999) อย่างไรก็ตามเทคนิค RAPD เป็นเทคนิคที่ง่าย ไม่สิ้นเปลือง สามารถตรวจสอบได้อย่างรวดเร็ว ไม่จำเป็นต้องใช้ข้อมูลจากลำดับเบสจากดีเอ็นเอต้นแบบ และใช้ปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นน้อย

เทคนิค RAPD ถูกนำมาใช้เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในพืชหลายชนิด เช่น *Brassica oleracea* (Lazaro and Aguinagalde, 1998) พืชตระกูลสน (Adams, 1999; Adams *et al.*, 2003) กล้วยไม้ในสกุล *Vanda* (Lim *et al.*, 1999) *Oryza sativa* (Raghunathachari *et al.*, 2000) *Gossypium barbadense* (Ghany and Zaki, 2003) *Oryza granulata* (Wu *et al.*, 2004) ต้นหม่อน (Awasthi *et al.*, 2004) และพืชตระกูลขิง (Ongkarn *et al.*, 2005) เป็นต้น

นอกจากนี้ เทคนิค RAPD ยังถูกนำมาใช้เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของปรองโดย พัชรมน (2545) จำแนกชนิดของปรองในสกุล *Cycas* 19 ชนิด ได้แก่ *C. chamoensis*, *C. macrocarpa*, *C. pectinata*, *C. clivicola*, *C. pranburiensis*, *C. litolaris*, *C. tansachana*, *C. siamensis*, *C. nongnoochiae*, *C. simplicipinna*, *C. seemannii*, *C. bougainvilleana*, *C. parvulus*, *C. chevalieri*, *C. diannanensis*, *C. nathorstii*, *C. edentata*, *C. wadei* และ *C. micholitzii* โดยใช้เทคนิค RAPD สามารถคัดเลือกไพรเมอร์ 5 ชนิด เพื่อใช้สังเคราะห์ดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 87 แถบ เมื่อนำผลที่ได้มาคำนวณโดยใช้โปรแกรม NTSYS เพื่อหาค่าดัชนีความเหมือนและสร้างเป็นแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogenetic tree) ทำให้รู้ระดับความสัมพันธ์และสามารถจัดแบ่งกลุ่มปรองสกุล *Cycas* ออกเป็นสองกลุ่ม เมื่อพิจารณาชนิดของปรองสกุล *Cycas* ในกลุ่มแรกส่วนใหญ่มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย อีกกลุ่มมีแหล่งกำเนิดอยู่นอกประเทศไทย ในขณะที่มินตา (2547) ได้หาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของปรองในสกุล *Encephalartos* 20 ชนิด ได้แก่ *E. sclavoi*, *E. chimanimaniensis*, *E. princeps*, *E. cerinus*, *E. trispiosus*, *E. barteri ssp. Barteri*, *E. septentrionalis*, *E. aplanatus*, *E. concinnus*, *E. munchii*, *E. ituriensis*, *E. pterogonus*, *E. macrostobilus*, *E. nubimontanus*, *E. caffer*, *E. ngoyanus*, *E. equatorialis*, *E. arenarius*, *E. laurentianus* และ *Encephalartos sp.* โดยใช้เทคนิค RAPD เช่นกัน โดยสามารถคัดเลือกไพรเมอร์ 13 ชนิด เพื่อใช้สังเคราะห์ดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 240 แถบ เมื่อนำผลมาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม NTSYS โดยเชื่อมโยงกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถจัดกลุ่มปรองที่มีความแตกต่างกันได้เป็น 5 กลุ่ม อย่างไรก็ตามเมื่อนำลักษณะทางสัณฐานวิทยา 9 ลักษณะมาร่วมพิจารณาเพื่อจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่ามีเพียง 7 ลักษณะเท่านั้น ที่สอดคล้องกับการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ได้แก่ ลักษณะลำต้น สีของแกนกลางใบ ก้านใบมีหนามหรือไม่มีหนาม จำนวน prickle รูปร่างของใบย่อย ลักษณะของขอบใบย่อยทั้งด้านบนและด้านล่าง สำหรับลักษณะของใบย่อยเพียงทำมุมกับแกนกลางใบและการโค้งตัวของใบยังมีความแปรผันในแต่ละกลุ่ม โดยที่ *E. nubimontanus* และ *E. ngoyanus* ไม่อาจจัดอยู่ใน 5 กลุ่มดังกล่าว เมื่อคัดเลือกไพรเมอร์ 8 ชนิดจาก 13 ชนิด ซึ่งเกิดแถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนมาวิเคราะห์ข้อมูลเช่นเดียวกับตอนแรก ทำให้จัดกลุ่มปรองสกุล *Encephalartos* ทั้ง 20 ชนิดตามความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้เป็น 6 กลุ่ม สอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั้ง 9 ลักษณะ ซึ่งสามารถใช้เปรียบเทียบและจัดกลุ่มปรองในสกุลนี้ได้เป็นอย่างดี

ดังได้กล่าวมาแล้วว่าพัทธรณ (2545) ได้หาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของปรงในสกุล *Cycas* ทั้งหมด 19 ชนิด โดยใช้เทคนิค RFLP และ RAPD ในขณะที่มินตา (2547) หาความสัมพันธ์ของปรงในสกุล *Encephalartos* 20 ชนิด โดยใช้เทคนิค RAPD ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา และจากรายงานการวิจัยที่เกี่ยวกับการจำแนกชนิดของปรงในสกุล *Zamia* โดยใช้เทคนิคต่างๆ ได้ทำไว้เพียงบางชนิดเท่านั้น ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้นำเทคนิค RAPD มาศึกษาปรงในสกุล *Zamia* หลากหลายชนิดมากขึ้นในลักษณะเดียวกันกับที่พัทธรณและมินตาได้รายงานไว้ เพราะเทคนิคนี้ได้นำมาใช้ตรวจสอบพันธุ์พืชกันอย่างกว้างขวาง (Williams *et al.*, 1990) และเป็นวิธีที่ง่ายต่อการตรวจสอบจีโนมพืชตลอดทั้งจีโนม ทำให้สามารถรวบรวมข้อมูลในแง่ของความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาและแหล่งกำเนิดของปรงในสกุล *Zamia* ให้ได้อย่างสมบูรณ์และมีระบบที่ชัดเจนยิ่งขึ้น