

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/24938> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Chaowasku, Tanawat

**Title:** The Miliuseae revisited : phylogenetic, taxonomic, and palynological studies in a major clade of Annonaceae

**Issue Date:** 2014-03-27

## Samenvatting en conclusies

Dit proefschrift op het gebied van de plantensystematiek omvat acht deelonderzoeken waarin de moleculaire fylogenie, de taxonomie en de pollenmorfologie van de tribus Miliuseae (*sensu* Chatrou *et al.* 2012; voorheen de 'miliusoid clade' *sensu* Mols *et al.* 2004b) worden behandeld. Deze tribus behoort tot de pantropische bloemplantenfamilie Annonaceae (Zuurzakfamilie). De algemene doelstellingen van het onderzoek waren:

(1) het vaststellen van de verwantschapsrelaties van de tribus Miliuseae met andere tribussen, (2) het ophelderen van de geslachtsomgrenzingen binnen de tribus Miliuseae door de verwantschapsrelaties tussen de geslachten te onderzoeken, en (3) het begrijpen van de kenmerkevolutie binnen de tribus Miliuseae.

Om deze doelstellingen te bereiken, werd voor de onderfamilie Malmeoideae een moleculaire fylogenie gereconstrueerd waarbij, vergeleken met eerdere studies, meer chloroplast DNA-markers werden gebruikt en een veel uitgebreidere selectie van taxa werd onderzocht. Deze selectie omvatte vertegenwoordigers van de tribussen Maasieae, Malmeeae, Fenerivieae, Dendrokingstonieae (voor het eerst bemonsterd), Monocarpieae en Miliuseae. Tevens werden de twee tribussen Dendrokingstonieae en Monocarpieae, die beide slechts één geslacht omvatten, en een aantal genera van de Miliuseae grondig taxonomisch gerevideerd of gedetailleerd palynologisch onderzocht. Voor het onderzoek naar de evolutie van macromorfologische en palynologische kenmerken werd gebruik gemaakt van reconstructies van voorouderkenmerken. Geslachtsomgrenzingen binnen de Miliuseae werden bediscussieerd aan de hand van de resultaten van het moleculaire fylogenetische onderzoek. Op grond van macromorfologische kenmerken en pollenmorfologie werden binnen deze tribus twee nieuwe geslachten onderscheiden: *Hubera* en *Winitia*.

**Hoofdstuk 2** behandelt fylogenetische reconstructies van een tak binnen de onderfamilie Malmeoideae die zijn gebaseerd op moleculair onderzoek met zeven chloroplast markers (*rbcL* exon, *trnL* intron, *trnL-F* spacer, *matK* exon, *ndhF* exon, *psbA-trnH* spacer, *ycf1* exon). Deze reconstructies omvatten vertegenwoordigers van de tribussen Maasieae, Malmeeae, Fenerivieae, Monocarpieae en Miliuseae (waarvan ca. 89% van de geslachten zijn bemonsterd) en zijn tot stand gekomen door gebruik te maken van het principe van maximale spaarzaamheid (maximum parsimony) en Bayesiaanse analyses. Het onderzoek was inclusief de tribus Dendrokingstonieae, dat slechts één geslacht omvat en waarvan nooit eerder materiaal voor moleculair onderzoek was gebruikt. De fylogenetische analyses lieten zien dat de Dendrokingstonieae, Monocarpieae en Miliuseae een goed ondersteunde tak van de fylogenetische boom vormen, en dat de Dendrokingstonieae een zustergroep is van een zwak tot matig ondersteunde tak die bestaat uit de Monocarpieae en Miliuseae. De tribussen Maasieae, Malmeeae en Fenerivieae vormen een polytomie met de Dendrokingstonieae-Monocarpieae-Miliuseae tak. De meeste geslachten van de Miliuseae die met twee of meer soorten in de analyses vertegenwoordigd waren, bleken monofyletisch te zijn, met uitzondering van het parafyletische geslacht *Desmopsis*, waarin *Stenanona* genesteld is. De gevonden fylogenie bevestigt bovendien dat er binnen de Miliuseae een nog onbeschreven

geslacht bestaat dat in Thailand voorkomt. Voor de Miliuseae werden bovendien van de kenmerken die op tribus- of geslachtsniveau onderscheidend zijn de voorouderlijke kenmerktoestanden gereconstrueerd. Hiervoor werd eveneens gebruik gemaakt van een Bayesiaanse benadering en het principe van maximale spaarzaamheid. De morfologische variabiliteit bij pollenkorrels bleek vervolgens goed overeen te komen met de moleculaire fylogenie. Cryptoaperturaat of disulculaat pollen kan beschouwd worden als een synapomorfie voor de Miliuseae, terwijl in alle andere tribussen, inclusief de Dendrokingstonieae en de Monocarpieae, monosulcaat pollen voorkomt. De volgende kenmerktoestanden kunnen als voorouderlijke kenmerktoestanden van de Miliuseae worden beschouwd: vruchtbeginsels met veel zaadknoppen, buitenste kroonbladen met een opvallend uiterlijk, ongeklauwde binnenste kroonbladen, tweeslachtige bloemen, stekelvormige tot afgeplat wigvormige intrusies in het endosperm, afgifte van rijp pollen in de vorm van losse pollenkorrels, en pollenkorrels met een columellair tot grofkorrelig infratectum. De fylogenetische analyses laten zien dat de meeste onderzochte kenmerken (maximum aantal zaadknoppen per vruchtblad, mate van opvallen van de buitenste kroonbladeren, binnenste kroonbladbasis, geslacht van de bloem, ruminatie van het endosperm, de verspreidingseenheid van rijp pollen, infratectum-type van pollenkorrels) binnen de Miliuseae veel homoplasie vertonen.

In druk in *American Journal of Botany*.

**Hoofdstuk 3** behandelt het geslacht *Hubera*, een nieuw geslacht binnen de tribus Miliuseae. Dit geslacht stond voorheen bekend als de *Polyalthia cerasoides*-groep en krijgt de status van geslacht op grond van een combinatie van macromorfologie, pollenmorfologie en moleculaire fylogenie (gebaseerd op dezelfde DNA-regio's en dezelfde analyses als beschreven in Hoofdstuk 2). *Hubera* is een sterk ondersteunde monofyletische groep. De zustergroep-relatie met *Milium* wordt matig tot sterk ondersteund, maar synapomorfieën (gemeenschappelijke afgeleide kenmerken) die de twee geslachten gemeen hebben zijn tot dusver nog niet gevonden. De belangrijkste onderscheidende kenmerken van *Hubera* zijn netvormige adering van de bladeren (door de fijnste nerfjes), okselstandige bloeiwijzen, één zaadknop per vruchtbeginsel, een vlakke tot iets verhoogde zaadnerf, stekelvormige (tot afgeplat wigvormige) intrusies in het endosperm, en pollenkorrels met een fijn en dicht korrelig infratectum. Een aantal *Hubera*-soorten (12 van de 27 in dit geslacht ondergebrachte soorten) heeft aan de onderzijde van het blad in de nerfoksels tussen de hoofdnerf en de zijnerf (van de eerste orde) een dicht toefje haren, waarmee deze *Hubera*-soorten zich onderscheiden van soorten van *Polyalthia sensu stricto* en andere geslachten (*Monoon*, *Marsypopetalum*, *Trivalvaria*), die voorheen waren ondergebracht in de sterk polyfyletische *Polyalthia sensu lato*.

Gepubliceerd in *Phytotaxa* 69: 33–56. 2012.

**Hoofdstuk 4** onderzoekt de geslachtsomgrenzingen van *Stelechocarpus* en *Sageraea* met behulp van een combinatie van moleculaire fylogenie (gebaseerd op dezelfde DNA-regio's en dezelfde analyses als beschreven in Hoofdstuk 2), macromorfologie en

pollenmorfologie. Het onderzoek resulteerde in de herkenning van een nieuw geslacht, *Winitia*, dat voornamelijk wordt gekenmerkt door: (1) veelzuilige stempels, een synapomorfie voor dit geslacht, en (2) pollenkorrels met een erg dun tectum en een min of meer columellair/grofkorrelig en een erg duidelijk te onderscheiden basale laag. Het nieuwe geslacht omvat twee soorten: *W. cauliflora* comb. nov. en *W. expansa* sp. nov. De eerste soort komt voor in Vietnam, zuidelijk Thailand, West-Maleisië (Maleisisch deel van het Malakkaschiereiland) en Borneo, de tweede is een endem van zuidelijk Thailand. *Winitia* wordt matig tot sterk ondersteund als zustergroep van *Stelechocarpus* (dat slecht één soort omvat: *Stelechocarpus burahol*) met drie autapomorfieën: (1) mannelijke en vrouwelijke bloemen op dezelfde plant staan gescheiden van elkaar (bij *Winitia* staan ze bij en door elkaar), (2) mannelijke en vrouwelijke bloemen op dezelfde plant verschillen in grootte (bij *Winitia* hebben mannelijke en vrouwelijke bloemen dezelfde afmetingen), en (3) pollenkorrels met een fijn en dicht korrelig infratectum. *Stelechocarpus* en *Winitia* hebben twee vegetatieve eigenschappen met elkaar gemeen: de opvallende zijnerf aan de onderzijde van het blad en het (licht) verhoogde oppervlak van de hoofdnerf. Een tak van de fylogenetische boom met *Stelechocarpus* en *Winitia* wordt sterk ondersteund als zustergroep van *Sageraea*. *Sageraea* heeft slechts één onderscheidend vegetatief kenmerk: de min of meer onduidelijke zijnerf aan de onderzijde van het blad.

Gepubliceerd in *Systematics and Biodiversity* 11: 195–207. 2013.

**Hoofdstuk 5** betreft een voorstel om de naam *Meiogyne* te behouden (conserveren) vanwege de stabiliteit van namen. De naam *Meiogyne* wordt veel gebruikt en vervangend door de oudere naam *Fitzalania*, wat volgens de nomenclatuurregels eigenlijk zou moeten, zal tot verwarring leiden. *Meiogyne* en *Fitzalania* hebben twee onderscheidende kenmerken met elkaar gemeen: een in de lengterichting gerimpeld of gegroefd gebied aan de basis van de bovenzijde van de binnenste kroonbladeren en een verlengd helmbindsel van de binnenste meeldraden. Het geslacht *Fitzalania* is, fylogenetisch gezien, genesteld in *Meiogyne* (Hoofdstuk 2). *Meiogyne* omvat echter meer soorten en heeft een groter areaal dan *Fitzalania*. Bovendien is de naam meiogynine A, een dimere sesquiterpenoïde met veelbelovende antikanker-eigenschappen die wordt geïsoleerd uit de bast van *Meiogyne cylindrocarpa*, afgeleid van de naam *Meiogyne*.

Gepubliceerd in *Taxon* 60: 1522–1523. 2011.

**Hoofdstuk 6** omvat een taxonomische revisie van het geslacht *Dendrokingstonia* (het enige geslacht van de tribus Dendrokingstonieae) en tevens een gedetailleerde pollenmorfologische studie van zowel dit geslacht als van het vermoedelijk verwante geslacht *Monocarpia* (het enige geslacht van de tribus Monocarpieae). Beide geslachten hebben een binnen de familie Annonaceae zelden voorkomende combinatie van kenmerktostanden met elkaar gemeen: een sterk gereduceerd aantal vruchtbladen per bloem, sterk vergrote en min of meer schildvormige stempels, bladeren die over de gehele lengte van de bladschijf door fijne nerfjes geaderd zijn, en hardwandige en grote enkelvoudige vruchten. De twee geslachten hebben ook monosulcate pollenkorrels met een min of meer uitstulpende intine en een columellair infratectum met elkaar gemeen.

*Dendrokingstonia* lijkt op *Monocarpia*, maar heeft okselstandige bloeiwijzen (eindstandig in *Monocarpia*) en vierdelige plaatvormige intrusies in het endosperm (stekelvormig in *Monocarpia*). Op grond van de pollenmorfologie valt te verwachten dat *Dendrokingstonia* in de fylogenetische boom buiten de tribus Miliuseae wordt geplaatst, die immers gekenmerkt wordt door cryptoaperturaat/disulculaat pollen. Vanwege macromorfologische en pollenmorfologische kenmerken wordt echter wel verondersteld dat *Monocarpia* nauw verwant is met *Dendrokingstonia*. Zoals hier omschreven omvat *Dendrokingstonia* de volgende drie soorten: (1) *D. acuminata* comb. nov., die voorkomt op Sumatra, (2) *D. gardneri* sp. nov., die voorkomt op zuidelijk Thailand en het noordelijk deel van West-Maleisië, en (3) *D. nervosa*, die voorkomt in West-Maleisië.

Gepubliceerd in *Botanical Journal of the Linnean Society* 168: 76–90. 2012.

**Hoofdstuk 7** omvat een alfa-taxonomische bewerking van Thaise vertegenwoordigers van het typegeslacht van de tribus Miliuseae, het geslacht *Miliusa*. Er werden zeven nieuwe soorten beschreven voor Thailand: *M. fragrans*, *M. hirsuta*, *M. intermedia*, *M. nakhonsiana*, *M. sessilis*, *M. thailandica* en *M. umpangensis*. *Miliusa* wordt omschreven door een combinatie van kenmerktostanden: (1) kelkbladeren en buitenste kroonbladeren zijn even groot en veel kleiner dan de binnenste kroonbladeren, (2) een dichtbehaarde bloembodem, (3) ‘miliusoïde’ meeldraden, dat wil zeggen los verspreid staande meeldraden zonder opvallend opgezwollen helmbindsel dat de helmknoppen bedekt, en (4) vierdelige plaatvormige intrusies in het endosperm. De morfologische omgrenzing van vier bestaande informele groepen binnen het geslacht *Miliusa* werd uitgebreid. De vier nieuw beschreven soorten *M. fragrans*, *M. intermedia*, *M. nakhonsiana* en *M. sessilis* hebben halfronde tot halvemaanvormige klierstructuren aan de basis van de bovenzijde van de binnenste kroonbladeren, wat een onderscheidend kenmerk is voor de *M. mollis*-groep. De andere drie nieuwe soorten, *M. hirsuta*, *M. thailandica* en *M. umpangensis*, hebben binnenste kroonbladeren die, bij het receptief worden van de stigma’s en het rijpen van de meeldraden (de bloem gaat daarbij maar beperkt open), van de bladbasis tot ongeveer het midden van het kroonblad dicht samengedrukt opeen staan, een kenmerktostand die uniek is voor de *M. campanulata*-groep. In de bewerking is een sleutel opgenomen voor alle 19 *Miliusa*-soorten van Thailand. Tevens wordt een compleet overzicht gegeven van de taxonomische nomenclatuur, inclusief basioniemen, synoniemen en lectotypificaties, van de 12 soorten die al van Thailand bekend waren.

Gepubliceerd in *Nordic Journal of Botany* 31: 680–699. 2013.

**Hoofdstuk 8** behandelt palynologisch onderzoek van *Miliusa* en een aantal andere geslachten van de polyfyletische tribus Miliuseae *sensu* Keßler (1993): *Alphonsea*, *Mezzettia*, *Orophea* en *Platymitra*, en tevens de *Polyalthia cerasoides*-groep (nu beschouwd als een apart geslacht, *Hubera*, zie Hoofdstuk 3), die op grond van moleculaire fylogenetische analyses als een zustergroep van *Miliusa* kan worden beschouwd. Voor dit onderzoek werd gebruik gemaakt van een lichtmicroscop (LM), een raster (scanning)elektronenmicroscop (SEM) en een transmissie-elektronenmicroscop (TEM). Zoals al in Hoofdstuk 7 werd opgemerkt, worden binnen *Miliusa* vier informele

groepen onderscheiden. Dit onderscheid wordt niet terug gevonden in pollenmorfologie, omdat de pollenkorrels van de vier groepen morfologisch nauwelijks van elkaar verschillen en de pollenmorfologie van *Miliusa* veel overeenkomsten vertoont met die van *Alphonsea*, *Orophea* en *Platymitra*. Bij alle eerder genoemde geslachten, inclusief *Miliusa*, wordt het rijpe pollen afgegeven in de vorm van losse pollenkorrels. De exine heeft een tectum met verrucate, rugulate, fossulate of scabrate ornamentatie en een columellair tot grofkorrelig infratectum. De ornamentatie van de pollenkorrels van de *Polyalthia cerasoides*-groep en *Mezzettia* komt goed overeen met die van de andere vier genera, maar bij de *Polyalthia cerasoides*-groep heeft de exine een fijn en dicht korrelig infratectum, terwijl de exine bij *Mezzettia* geen infratectum heeft, wat wil zeggen dat de exine alleen een basale laag met scabrae/verrucae heeft. Pollenkorrels van alle onderzochte geslachten hebben in het algemeen twee kiemzones, die worden gekenmerkt door vergrotingen en reducties van de intine, terwijl de daarboven liggende exine geen aperturen vertoont (cryptoaperturaat) of soms ingedrukt is (disulculaat). Als conclusie kan worden gesteld dat de tribus Miliuseae *sensu* Keßler (1993) niet uitsluitend op grond van pollenmorfologie kan worden onderscheiden, omdat volgens moleculaire analyses verwante geslachten een overeenkomstige pollenmorfologie hebben.

Gepubliceerd in *Grana* 47: 175–184. 2008.

**Hoofdstuk 9** draagt bij aan de kennis van de systematiek van *Neo-uvaria*, een geslacht dat vanwege diens sterharen uniek is binnen de onderfamilie Malmeoideae. Er worden twee nieuwe soorten voor zuidelijk Thailand beschreven (*N. sparsistellata* en *N. telopea*) en nieuwe combinaties gemaakt voor twee Filipijnse soorten (*N. merrillii* en *N. viridifolia*). In deze bijdrage is ook een voorlopige sleutel voor de *Neo-uvaria*-soorten opgenomen. Tevens werd de pollenmorfologie onderzocht van een aantal *Neo-uvaria*-soorten en van een paar soorten van *Enicosanthum* (recentelijk ondergebracht in het geslacht *Monoon*, zie Xue *et al.* 2012), op grond van moleculaire analyses een zustergroep van *Neo-uvaria*. Met uitzondering van de voor *Neo-uvaria* unieke sterharen, de relatief dikkere/vlezigere kroonbladeren en het gereduceerde aantal meeldraden en vruchtbladen per bloem, zijn de andere morfologische kenmerken van *Neo-uvaria* (bijv. okselstandige bloeiwijzen, één relatief groot zaad per enkelvoudige vrucht (monocarp), een opvallend gegroefde zaadnerf, vierdelige plaatvormige intrusies in het endosperm) hetzelfde als bij *Enicosanthum*. Pollen van *Neo-uvaria* blijkt vrij homogeen te zijn; alle onderzochte soorten hebben pollenkorrels met een (micro)echinate ornamentatie. Onderzoek met de transmissie-elektronenmicroscop (TEM) laat zien dat de (micro)echinae (stekeltjes) structuren zijn die op het tectum staan en dat het infratectum bestaat uit min of meer duidelijk te onderscheiden korreltjes (wat overeenkomt met de term 'grofkorrelig' in Hoofdstuk 2). Het pollen van *Enicosanthum* ziet er hetzelfde uit als dat van *Neo-uvaria*, maar pollenkorrels van *E. paradoxum* en *E. fuscum* hebben een scabrate ornamentatie. De macromorfologie, de pollenmorfologie en de moleculaire fylogenie ondersteunen de in eerder onderzoek aangetoonde zusterrelatie tussen *Neo-uvaria* en *Enicosanthum*.

Gepubliceerd in *Phytotaxa* 32: 27–42. 2011.

## Toekomstig onderzoek

Het resultaat van het onderzoek dat ten grondslag ligt aan dit proefschrift geeft nieuwe inzichten in de geslachtsomgrenzingen van de tribus Miliuseae en de verwantschapsrelaties boven en onder het tribusniveau. Basale delen van de fylogenetische boom blijven echter zwak ondersteund en verder moleculair-fylogenetisch onderzoek is dan ook noodzakelijk. Het Saunders Lab van de Universiteit van Hong Kong heeft door middel van een nieuwe sequentietechniek ('next generation sequencing'), waarbij zeer grote hoeveelheden DNA relatief snel kunnen worden gesequenced en die hier werd toegepast op het hele genoom van een groot aantal Miliuseae-soorten, sequentiegegevens verkregen die nieuw inzicht zullen geven in de variabiliteit van de markers van het plastoom (plastiden-DNA). Analyse van deze gegevens zal ook bijdragen tot de ontwikkeling van nieuwe markers, voor zowel het plastoom als het nucleair genoom (celkern-DNA), met de juiste mate van variabiliteit voor evolutionair onderzoek aan de Miliuseae. Nieuwe markers zijn nodig om de fylogenie van deze lastigste tak van de fylogenetische boom volledig op te lossen.

Een goed opgeloste fylogenie van de Miliuseae met nauw verwante tribussen is essentieel om de historische biogeografie van de onderfamilie Malmeoideae te kunnen onderzoeken. De tribussen Monocarpieae en Dendrokingstonieae, die beide slechts één geslacht omvatten, zijn in hun verspreiding beperkt tot westelijk Malesië (West-Maleisië, Sumatra, plus Borneo voor de Monocarpieae) en zuidelijk Thailand. De Dendrokingstonieae worden momenteel gezien als de vroegst afgesplitste groep van de Dendrokingstonieae-Monocarpieae-Miliuseae tak van de fylogenetische boom, wat mogelijk implicaties kan hebben voor de reconstructie van de historische biogeografie van deze tak. De precieze zustergroep-relatie van de Dendrokingstonieae-Monocarpieae-Miliuseae tak met de tribussen Malmeeae, Maasieae en Fenerivieae is nog niet opgelost. Het oplossen van de zustergroep-relaties van de Dendrokingstonieae-Monocarpieae-Miliuseae tak en fylogenetische analyses met een bredere selectie van vertegenwoordigers van de Aziatische geslachten van de tribus Miliuseae zal het mogelijk maken de volgende biogeografische vraagstukken te onderzoeken:

- Waar zijn de Dendrokingstonieae-Monocarpieae-Miliuseae tak en de tribus Miliuseae ontstaan?
- Is verspreiding vanuit een continentaal Zuidoost-Aziatisch of westelijk Malesisch oorsprongsgebied naar oostelijk Malesië en Australië, zoals dat voor *Pseuduvaria* (Su & Saunders 2009) en *Meiogyne* (Thomas *et al.* 2012) wordt verondersteld, een overheersend biogeografisch patroon voor de geslachten van de Miliuseae?
- Wat is de herkomst van de Indiase vertegenwoordigers van de Miliuseae-geslachten; vormen deze vroeg afsplitsende taken van de fylogenetische boom of zijn ze genesteld in takken die voornamelijk uit Zuidoost-Aziatische geslachten bestaan?

Er zijn bepaalde afstammingslijnen waarvoor diepgaand fylogenetisch onderzoek nodig is. Voor de geslachten *Sapranthus* en *Desmopsis sensu lato* (inclusief *Stenanona*) is fylogenetische onderzoek gebaseerd op een veel bredere selectie van soorten

noodzakelijk, omdat het onderscheid tussen de twee geslachten dat nu enkel is gebaseerd op macromorfologische kenmerken onduidelijk is. Nieuw fylogenetisch onderzoek dat de geïntegreerde benadering van Hoofdstuk 3 en 4 volgt zal inzicht geven in de geslachtsomgrenzingen binnen de *Sapranthus-Tridimeris-Desmopsis sensu lato* tak. Naast een grootschalige aanpak van toekomstige fylogenetische en biogeografische analyses van de tribus Miliuseae is aanvullend basaal taxonomisch onderzoek nodig. In de moleculaire fylogenetische analyses (Hoofdstuk 2), komt een tak naar voren die een voor Thailand onbekend en een voor de wetenschap onbeschreven geslacht vertegenwoordigt. Meer materiaal van dit geslacht, vooral van bloemen, is nodig om meer duidelijkheid te verkrijgen over de identiteit van dit geslacht en om het formeel te kunnen beschrijven. De onduidelijke omschrijvingen van soortenrijke geslachten van de Miliuseae, voorheen ondergebracht in het polyfyletische *Polyalthia sensu lato*-complex (*Hubera*, *Monoon*, *Polyalthia sensu stricto*) hebben taxonomische revisies belemmerd. Recent onderzoek van Xue *et al.* (2012) en Chaowasku *et al.* (2012a; Hoofdstuk 3) heeft weliswaar de omgrenzingen van deze geslachten verduidelijkt, maar de soorten van deze geslachten moeten nog steeds taxonomisch worden gerevideerd, en dat is voor goed fylogenetisch en biogeografisch vervolgonderzoek ook beslist noodzakelijk. Ook voor kleinere geslachten met duidelijke onderscheidende kenmerken, zoals *Marsypopetalum* (Xue *et al.* 2011), *Trivalvaria* (Van Heusden 1997b; Xue *et al.* 2011) en *Neo-uvaria* (Chaowasku *et al.* 2011a; Hoofdstuk 9), is een grondige taxonomische revisie noodzakelijk vanwege een aantal soorten dat nog onbekend is voor de wetenschap (eigen waarnemingen). Een ander geslacht dat nog moet worden bewerkt is *Popowia*. Er is een ongepubliceerde regionale bewerking van de hand van Moeljono (2009), maar een complete revisie van het geslacht is nog niet beschikbaar.

Reconstructies van de voorouderlijke kenmerktoestanden geven aan dat cryptoaperturaat/disulculaat pollen een synapomorfie is voor de tribus Miliuseae (Hoofdstuk 2). Dit kenmerksyndroom moet echter verder worden onderzocht met de rasterelektronenmicroscopie (SEM) in combinatie met kritisch puntdrogen om de oorspronkelijke vorm en toestand van de pollenkorrels zoveel mogelijk intact te houden. Het zou immers kunnen dat disulcaat pollen niet veel meer is dan cryptoaperturaat pollen waarbij de exine deels is ingeklapt ter hoogte van de kiemzones.

Bovendien moet pollen van vertegenwoordigers van de Miliuseae waarbij de pollenkorrels kennelijk geen kiemzones hebben verder worden onderzocht om te achterhalen of (1) eerder gemaakte en onderzochte doorsneden de kiemzones hebben gemist, (2) het onderzochte pollen in een stadium van ontwikkeling was waarin de kiemzones nog niet waren aangelegd, (3) zulk pollen inderdaad echt inaperturaat (omniaperturaat) is. Onderzoek naar het kiemen van pollenkorrels kan helpen om een aantal van deze vragen op te helderen.

Recente ontwikkelingen in sequentietechnologie, zoals de methoden en technieken die recent door Stull *et al.* (2013) en Davey *et al.* (2011) zijn voorgesteld, vergemakkelijken het genereren van enorme hoeveelheden DNA-sequentiegegevens tegen aanvaardbare kosten, en bieden daardoor grote mogelijkheden om zowel snelle soortvorming en radiatie uit het recente verleden als zulke gebeurtenissen uit het verre verleden te ontrafelen (bijv. Nadeau *et al.* 2012). Door van deze methodologische



ontwikkelingen gebruik te maken en deze te combineren met grondig morfologisch onderzoek en alfa-taxonomische revisies, zal een moderne taxonomische bewerking van de weerbarstige tribus Miliuseae en het volledig ontrafelen van diens fylogenetische verwantschapsrelaties tot de mogelijkheden gaan behoren.