



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

ANA CLARISSA MOURA RODRIGUES

**REVISÃO DO GÊNERO *BOVISTA* PERS. (LYCOPERDACEAE,
AGARICALES)**

Recife
2019

ANA CLARISSA MOURA RODRIGUES

**REVISÃO DO GÊNERO *BOVISTA* PERS. (LYCOPERDACEAE,
AGARICALES)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Biologia de Fungos. Área de Concentração: Micologia Básica

Orientador: Dr. Iuri Goulart Baseia (UFRN)

Coorientadora: Dra. Bianca Denise Barbosa da Silva (UFBA)

Coorientadora: Dra. María P. Martín (RJB-CSIC)

Recife
2019

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Rodrigues, Ana Clarissa Moura

Revisão do gênero *Bovista* Pers. (Lycoperdaceae, Agaricales) /
Ana Clarissa Moura Rodrigues - 2019.

114 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Iuri Goulart Baseia

Coorientadoras: Bianca Denise Barbosa da Silva

María P. Martín

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro
de Biociências. Bacharelado em Biologia de Fungos. Recife, 2019.

Inclui referências e apêndices.

1. Agaricomycetidae 2. Taxonomia integrativa 3. Puffballs
I. Baseia, Iuri Goulart (Orientador) II. Silva, Bianca Denise Barbosa da
(Coorientadora) III. Martín, María P. (Coorientadora) IV. Título

579.5 CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2022-005

REVISÃO DO GÊNERO *BOVISTA* PERS. (LYCOPERDACEAE, AGARICALES)
ANA CLARISSA MOURA RODRIGUES

Área de Concentração: Micologia Básica

Data da defesa: 30 de agosto de 2019.

COMISSÃO EXAMINADORA

MEMBROS TITULARES

Dr. Iuri Goulart Baseia – (Orientador)
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Dr. Rhudson Henrique Santos Ferreira da Cruz – Examinador Externo
Universidade Federal do Oeste da Bahia

Dr. Roger Fagner Ribeiro Melo – Examinador Externo
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Renan do Nascimento Barbosa – Examinador Externo
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Tatiana Baptista Gibertoni – Examinador Interno
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) por conceder as bolsas de doutorado e de doutorado sanduíche em Madrid (Espanha); à Universidade Federal de Pernambuco e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos pelos conhecimentos compartilhados, pelo suporte e pelo apoio financeiro dado durante o período desse estudo. Ao Real Jardín Botánico de Madrid pela estadia para realização de parte desse trabalho.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Iuri Goulart Baseia (UFRN), Profa. Dra. Bianca Denise Barbosa da Silva (UFBA) e Dra. María P. Martín (RJB–CSIC), agradeço o apoio, a amizade e sobretudo os conhecimentos. Agradeço em especial à María P. Martín, que foi muito além de uma orientadora, foi mãe e amiga, nunca esquecerei seu apoio, dedicação e amor.

Aos Doutores Renan do Nascimento Barbosa, Rhudson Henrique Santos Ferreira da Cruz, Tatiana Baptista Gibertoni, Tiara Souza Cabral por aceitarem o convite para participar da banca examinadora, bem como aos Doutores Laise de Holanda Cavalcanti e Roger Fagner Ribeiro Melo, membros suplentes, todos fornecendo orientações pertinentes para esse estudo.

Aos amigos do Laboratório de Biologia de Fungos, em especial a Gislaine Melanda, Julimar Freitas, Nathalia Mendonça, Rafaela Gurgel e Renato Juciano agradeço pelo companheirismo e parceria; aos amigos do Real Jardín Botánico de Madrid, em especial Sandra Nogal e Javier Fernández, por toda ajuda, conhecimento compartilhado e principalmente pela amizade.

Aos meus pais, Ana Eclésia e Bernardo Rodrigues, por me ensinarem que o trabalho árduo é sempre recompensado, pelo apoio infinito e pelo amor dado. Às minhas irmãs, Camila Câmara e Carol Ciríaco pelos momentos de risos e brincadeiras, e por estarem sempre comigo. Aos meus sobrinhos Lucca, Davi Moura e Gabriel Rodrigues por serem luz e calma em minha vida. À minha avó, Maria Moura Azevedo, que sempre esteve (e estará) comigo. Obrigado!

Aos amigos de sempre: Conceição de Souza, Déborah Oliveira, Ilana Fernandes e Renata Chikowski e Talita Dias, por estarem sempre dispostas a ajudar, aconselhar e por serem amigas fiéis. Por fim, meus sinceros agradecimentos a todos que colaboraram com essa jornada!

“Não há saber mais ou saber menos: há saberes diferentes”. (FREIRE, 1987, p.17)

RESUMO

As revisões taxonômicas envolvendo a integração de caracteres morfológicos e moleculares se tornaram essenciais para a compreensão da história evolutiva de membros de Lycoperdaceae (Agaricomycetes), como espécies do gênero *Bovista*. Durante longo período, houve dificuldades em delimitar esse gênero dada a semelhança morfológica com outros gêneros, como *Bovistella* e *Lycoperdon*. Diante disso, duas hipóteses foram elencadas para esse trabalho: a existência de caracteres morfológicos permitia separar as espécies do gênero *Bovista* das espécies de gêneros próximos, e que o número de espécies do gênero *Bovista* nos neotrópicos era superior ao mencionado nos trabalhos publicados. Diante disso, esse estudo teve como objetivo geral contribuir para o entendimento das relações filogenéticas entre as espécies de *Bovista* e gêneros associados, bem como sua delimitação em Agaricaceae. Para isso, foram analisadas 172 exsicatas provenientes de herbários nacionais e internacionais, utilizando estudos comparativos morfológicos e moleculares, obtendo sequências dos marcadores ITS e LSU. Os resultados demonstraram que *Bovista* é um gênero monofilético dentro de Lycoperdaceae, contendo três linhagens, duas delas correspondendo majoritariamente aos subgêneros *Bovista* e *Globalaria* e outra terceira linhagem com espécies neotropicais. Não foi possível determinar a posição filogenética de algumas espécies, sendo necessário a adição de mais marcadores moleculares. Foram identificadas um total de 25 espécies, das quais nove são novas para a ciência, todas estas localizadas na região neotropical. A taxonomia integrativa permitiu maiores avanços na identificação de espécies de *Bovista*, revelando uma diversidade anteriormente desconhecida do gênero.

Palavras-chave: Agaricomycetidae; taxonomia integrativa; *puffballs*.

ABSTRACT

Taxonomic revisions with integration of morphological and molecular characters have become essential for understanding the evolutionary history of Lycoperdaceae (Agaricomycetes), such as species of the genus *Bovista*. For a long time, there were difficulties to delimit this genus given the morphological similarity with the genus *Bovistella* and *Lycoperdon*. Thus, two hypotheses were listed: the existence of morphological characters allowed to separate species of the genus *Bovista* from species of close genera, and the number of *Bovista* species in the neotropics is higher than mentioned in the published works. Therefore, this study aimed to contribute to the understanding of phylogenetic relationships between *Bovista* species and associated genera, as well as their delimitation in Agaricaceae. For this, 172 exsiccates from national and international herbaria were analyzed, using comparative morphological and molecular studies, with sequences of the ITS and LSU markers. The results showed *Bovista* as a monophyletic genus within Lycoperdaceae, containing three main lineages, two of them corresponding to the subgenera *Bovista* and *Globaria* and another third lineage with neotropical species and *B. acuminata*. It was not possible to determine the phylogenetic position of some species, requiring the addition of more molecular markers. A total of 25 species were identified, of which nine are new to science, and all were located in the neotropical region. The integrative taxonomy allowed further advances in the identification of *Bovista* species, revealing the diversity of the genus.

Keywords: Agaricomycetidae; taxonomy; *puffballs*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Morfologia diversificada dos fungos gasteroides. A, B: Globosa. C: Estrelada. D: Ciatiforme. E: Faloide. F: Clatrada. G: Estipitada. 16
- Figura 2 – Aspectos macroscópicos de espécies de *Bovista*. A: Basidioma com exoperídio escamoso e ostíolo irregular. B: Detalhe de um exoperídio verrucoso. C: Detalhe de endoperídio papiráceo. D: Corte longitudinal da gleba e subgleba (seta). 17
- Figura 3 – Microestruturas de *Bovista*. A: Exoperídio pseudoparenquimatoso. B: Exoperídio hifálico. C: Endoperídio. D: Micoesclereídeos. E: Células infladas do endoperídio. F: Eucapilícios e paracapilícios. 19
- Figura 4 – Tipos de capilício encontrados no gênero *Bovista*. A: Tipo-lycperdon elástico. B: Tipo-lycperdon quebradiço. C: Tipo-intermediário ou de transição. D: Tipo-bovista. 20
- Figura 5 – Aspectos microscópicos da gleba. A: Poros no capilício (setas). B: Septo verdadeiro (setas). C: Ramificação subseptal. D: Ramificação anfisepal com elementos glebais. E: Septo falso. F: Paracapilício. 21
- Figura 6 – Morfologia dos basidiósporos de *Bovista*. A: Subgloboso e verrucoso. B: Oblongo e verrucoso com pedicelo curto. C: Globoso e verrucoso. D: Globoso e equinulado. E: Globoso e verrucoso com pedicelo curto. F: Globoso e equinulado com pedicelo longo. 23
- Figura 7 – Árvore de consenso estrito da análise de Máxima Parsimônia com valores de bootstrap e probabilidade posterior. 35
- Figura 8 – Equipamentos utilizados para a análise morfológica. A: Microscópio estereoscópico. B: Microscópio estereoscópico com câmera acoplada. C: Microscópio óptico com câmera acoplada. 40
- Figura 9 – Equipamentos utilizados para as análises moleculares. A: Kit de extração de DNA Quiagen®. B: Termociclador. C: Cuba de eletroforese. D: Transiluminador. 42
- Figura 10 – Inferência Bayesiana de *Bovista* (Alinhamento 1) usando espécies de *Lycoperdon* como grupo externo. Porcentagens de valores de bootstrap (MP e ML) e probabilidades posteriores acima dos ramos da esquerda para a direita, respectivamente. Cada ramo terminal, com o nome de acordo com a coleção GenBank ou Herbário. As Linhagens de *Bovista* estão indicadas à esquerda. 47
- Figura 11 – Inferência Bayesiana de *Bovista* (Alinhamento 2) usando espécies de *Lycoperdon* como grupo externo. Porcentagens de valores de bootstrap (MP e ML) e probabilidades posteriores acima dos ramos da esquerda para a direita, respectivamente. Cada ramo terminal, com o nome de acordo com a coleção GenBank ou do Herbário. As Linhagens de *Bovista* estão indicadas à esquerda. 50

Figura 12 – Espécies de *Bovista* incluídas no tratamento taxonômico. A–C: *Bovista aestivalis* BPI844732 (holótipo de *B. dakotensis*). D–F: *Bovista albosquamosa* M222086 (holótipo). G–I: *Bovista aspera* NY0065850 (isolectótipo). J–L: *Bovista californica* M222085 (isótipo). M–O: *Bovista dryina* NY475296. A, D, F, J, M: Basidiomas; B, E, H, K, N: Capilícios; C, F, I, L, P: Basidiósporos. 90

Figura 13 – Espécies de *Bovista* incluídas no tratamento taxonômico. A–C: *Bovista glacialis* M222080 (lectótipo). D–F: *Bovista grandipora* URM80067 (holótipo). G–I: *Bovista halophila* WU20607 (holótipo). J–L: *Bovista hollosii* M222095. M–O: *Bovista limosa* NY1771758. A, D, F, J, M: Basidiomas; B, E, H, K, N: Capilícios; C, F, I, L, P: Basidiósporos. 91

Figura 14 – Espécies de *Bovista* incluídas no tratamento taxonômico. A–C: *Bovista nigrescens* M222094. D–F: *Bovista oblongispora* BPI706920 (holótipo). G–I: *Bovista pusilliformis* M222078 (isótipo). J–L: *Bovista reunionis* WU23995 (isótipo). M–O: *Bovista sclerocystis* XAL 823 (holótipo). A, D, F, J, M: Basidiomas; B, E, H, K, N: Capilícios; C, F, I, L, P: Basidiósporos. 92

Figura 15 – Espécies de *Bovista* incluídas no tratamento taxonômico. A–C: *Bovista tomentosa* NY00065850 (isótipo de *B. minor*). D–F: *Bovista* sp. nov. 4 UFRN-Fungos 818 (holótipo). G–I: *Bovista* sp. nov. 5 UFRN-Fungos 2609 (holótipo). J–L: *Bovista* sp. nov. 6 UFRN-Fungos 2861 (holótipo). M–O: *Bovista* sp. nov. 7 UFRN-Fungos 1174 (holótipo). A, D, F, J, M: Basidiomas; B, E, H, K, N: Capilícios; C, F, I, L, P: Basidiósporos. 93

Figura 16 – Espécies de *Bovista* incluídas no tratamento taxonômico. A–C: *Bovista* sp. nov. 8 UFRN-Fungos 1036 (holótipo). D–F: *Bovista* sp. nov. 9 UFRN-Fungos 1283 (holótipo). G–I: *Bovista* sp. nov. 10 UFRN-Fungos 776 (holótipo). J–L: *Bovista* sp. nov. 11 UFRN-Fungos 408 (holótipo). M–O: *Bovista* sp. nov. 12 UFRN-Fungos 506 (holótipo). A, D, F, J, M: Basidiomas; B, E, H, K, N: Capilícios; C, F, I, L, P: Basidiósporos. 94

Figura 17 – Estruturas do exoperídio das espécies de *Bovista* incluídas no tratamento taxonômico. A: *B. aestivalis*. B: *B. albosquamosa*. C: *B. aspera*. D: *B. californica*. E: *B. dryina*. F: *B. glacialis*. G: *B. grandipora*. H: *B. halophila*. I: *B. limosa*. J: *B. nigrescens*. K: *B. oblongispora*. L: *B. pusilliformis*. M: *B. reunionis*. N, O: *B. sclerocystis*. 95

Figura 18 – Estruturas do exoperídio das espécies de *Bovista* incluídas no tratamento taxonômico. A: *Bovista* sp. nov. 4. B: *Bovista* sp. nov. 6. C: *Bovista* sp. nov. 8. D: *Bovista* sp. nov. 10. E: *Bovista* sp. nov. 11. F: *Bovista* sp. nov. 12. 96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características do gênero <i>Bovista</i> de acordo com os autores C.H. Persoon, E.M. Fries, H.F. Bonorden e G. Massee.	25
Tabela 2 – Delimitação dos gêneros <i>Bovista</i> , <i>Bovistella</i> e <i>Lycoperdon</i> após a classificação proposta por Lloyd (1902).	27
Tabela 3 – Delimitação dos gêneros <i>Bovista</i> , <i>Bovistella</i> e <i>Lycoperdon</i> após a classificação de Kreisel (1962).	28
Tabela 4 – Classificação do gênero <i>Bovista</i> , ao nível de subgêneros e seções, de acordo com Kreisel (1967).	29
Tabela 5 – Classificação das espécies de <i>Bovista</i> ao nível de séries de acordo com Kreisel (1967).	29
Tabela 6 – Delimitação dos gêneros <i>Bovista</i> , <i>Bovistella</i> e <i>Lycoperdon</i> baseada em caracteres morfológicos e moleculares segundo Larsson & Jeppson (2008).	34
Tabela 7 – Espécies sob o nome <i>Bovista</i> relatadas para o Brasil.	37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DO GÊNERO <i>BOVISTA</i> PERS.	16
2.2	HISTÓRICO DO GÊNERO <i>BOVISTA</i>	23
2.2.1	Aspectos morfológicos	23
2.2.2	Aspectos filogenéticos	32
2.3	O GÊNERO <i>BOVISTA</i> NO BRASIL	36
3	MATERIAIS E MÉTODOS	37
3.1	OBTENÇÃO DAS EXSICATAS PARA ANÁLISE	38
3.2	ANÁLISES MORFOLÓGICAS	38
3.2.1	Caracteres macroscópicos	38
3.2.2	Caracteres microscópicos	39
3.3	ANÁLISES MOLECULARES	40
3.3.1	Extração do DNA, amplificação (PCR) e sequenciamento	40
3.3.2	Análises filogenéticas	42
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1	IDENTIFICAÇÃO E OBTENÇÃO DE SEQUÊNCIAS A PARTIR DE EXSICATAS	45
4.2	RESULTADOS DO ALINHAMENTO 1 CONCATENADO	45
4.3	RESULTADOS DO ALINHAMENTO 2 CONCATENADO	48
4.4	DISCUSSÃO DOS ALINHAMENTOS CONCATENADOS	51
4.5	CARACTERES MORFOLÓGICOS COM VALOR TAXONÔMICO	56
4.6	LISTA DE ESPÉCIES DE <i>BOVISTA</i> RECONHECIDAS NESSE TRABALHO	57
4.7	TRATAMENTO TAXONÔMICO DAS ESPÉCIES DE <i>BOVISTA</i> OBTIDAS	58
5	CONCLUSÕES	97
	REFERÊNCIAS	98

APÊNDICE A – TODOS OS ESPÉCIMES DE *BOVISTA* ESTUDADOS INCLUÍDOS OS RESPECTIVOS NÚMEROS DOS HERBÁRIOS (*VOUCHERS*), OS PAÍSES E O TIPO DE ANÁLISE REALIZADA. 107

APÊNDICE B – TODAS AS EQUÊNCIAS DE ESPÉCIMES DE *BOVISTA*, *BOVISTELLA* E *LYCOPERDON* UTILIZADAS NESSE TRABALHO O NOME TÁXON, A COLEÇÃO, O HERBÁRIO, O PAÍS E O NÚMERO DE ACESSO DO GENBANK. EM NEGRITO ESTÃO TODAS AS SEQUÊNCIAS GERADAS NESSE TRABALHO ATÉ O PRESENTE MOMENTO; ACC. N. INDICA AS SEQUÊNCIAS QUE AINDA NÃO FORAM DEPOSITADAS. 110

1 INTRODUÇÃO

A compreensão da classificação filogenética dos fungos é um desafio. Segundo Hebert *et al.* (2003), os taxonomistas foram capazes de identificar, de forma confiável, cerca de 0,01% das mais de 5 milhões de espécies estimadas por Blackwell (2011). A abordagem tradicional, ou seja, a identificação de espécies utilizando apenas características morfológicas, possui limitações significantes e podem não revelar a diversidade de fungos (Seifert, 2009). Dessa forma, a busca por novas abordagens, com o objetivo de reconhecer um táxon, tornou-se uma discussão essencial entre micologistas.

Sabe-se que a utilização de coleções, geralmente acondicionada em locais específicos, como os herbários, é uma importante ferramenta para a taxonomia. Essas coleções constituem modelos de biodiversidade, uma vez que fornecem dados sobre os espécimes assim como dados ecológicos (Brooke, 2000; Suarez & Tsutsui, 2004). Ao final do século XX, com surgimento de técnicas moleculares para a identificação dos fungos – através do desenvolvimento da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e do sequenciamento rápido de DNA – permitiu avanços principalmente para a taxonomia do Reino Fungi (White *et al.*, 1990; Bruns *et al.*, 1991; Whitfield, 1999).

Dessa forma, a utilização de sequências de DNA como método de comparação de espécies tem demonstrado que os caracteres fenotípicos, tradicionalmente usados na taxonomia, podem representar, na realidade, processos de convergência evolutiva (Hibbett *et al.*, 2011). Nesse sentido, a abordagem molecular vem ajudando a revelar a diversidade fúngica, identificando espécies crípticas ou complexos de espécies, que são comuns em muitos grupos de fungos (Schoch *et al.*, 2014).

Durante longo período, a identificação morfológica de Lycoperdaceae Chevall. foi a única forma de determinar as espécies. Contudo, por apresentar uma grande plasticidade fenotípica, somente as características morfológicas não foram suficientes para reconhecer as espécies de Lycoperdaceae, apesar das intensas revisões morfológicas, incluindo de espécies-tipo, dadas por vários taxonomistas, como Demoulin (1970), Kreisel (1962, 1964, 1967) e Lange (1987).

As revisões taxonômicas envolvendo a integração de caracteres morfológicos e moleculares se tornaram essenciais para a compreensão da história

evolutiva de membros de Lycoperdaceae, como espécies do gênero *Bovista* (Larsson *et al.*, 2009; Alfredo *et al.*, 2017). A semelhança morfológica entre espécies dos gêneros *Bovista*, *Bovistella* e *Lycoperdon* vem gerando confusões taxonômicas e nomenclaturais, além de subestimar a diversidade de espécies presentes nesses gêneros. Para isso, foram levantadas duas hipóteses: 1) existem caracteres morfológicos que permitem separar as espécies do gênero *Bovista* das espécies de gêneros próximos, como *Bovistella* e *Lycoperdon*; 2) o número de espécies do gênero *Bovista* nos neotrópicos é superior ao mencionado nos trabalhos publicados, uma vez que muitas espécies foram identificadas erroneamente. Diante disso, esse trabalho teve como objetivo geral contribuir para o entendimento das relações filogenéticas entre as espécies de *Bovista* e gêneros associados, bem como sua delimitação em Agaricaceae. Para alcançar esse objetivo, foram propostos seis objetivos específicos, a saber: 1) revisar as exsiccatas das espécies de *Bovista*, preferencialmente de espécies-tipo, encontradas em herbários; 2) analisar

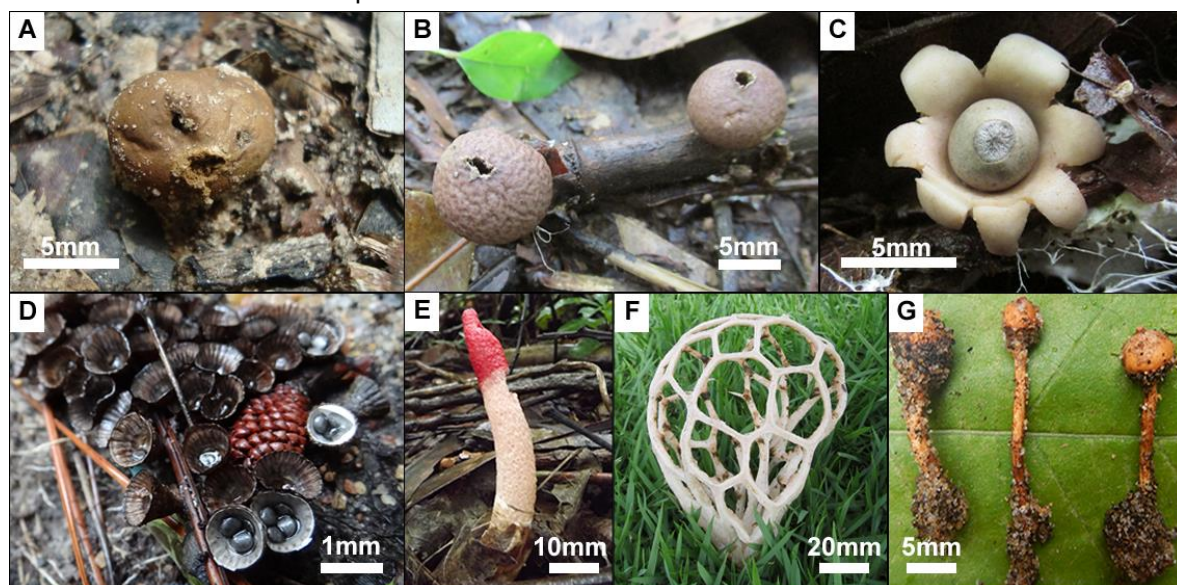
caracteres macro e microscópicos para identificação morfológica dos espécimes; 3) analisar as sequências moleculares das espécies; 4) estudar a relação de caracteres morfológicos e moleculares do gênero; 5) delimitar caracteres informativos para o gênero; 6) descrever os táxons com comentários taxonômicos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DO GÊNERO *BOVISTA* PERS.

Por longo período o gênero *Bovista* permaneceu acomodado na classe Gasteromycetes Fr., um grupo que reuniu fungos com basidiomas angiocárpicos e basidiósporos com formação e maturação endógena sendo liberados passivamente – denominados estatimospóricos (Dring, 1973; Miller & Miller, 1988; Webster & Weber, 2007). Essas características agruparam fungos com origens e morfologias distintas, exibindo desde formas globosas, estreladas, ciatiformes a faloideas e clatradas (Figura 1A–G). Estudos filogenéticos do final do século XX demonstraram a polifilia da classe e atualmente ela está destituída de valor taxonômico. Desta forma, as espécies com o hábito gasteroide foram agrupadas em vários clados de Agaricomycetes (Bruns *et al.*, 1989; Hibbett *et al.*, 1997; Hibbett *et al.*, 2007).

Figura 1 – Morfologia diversificada dos fungos gasteroides. A, B: Globosa. C: Estrelada. D: Ciatiforme. E: Faloide. F: Clatrada. G: Estipitada.



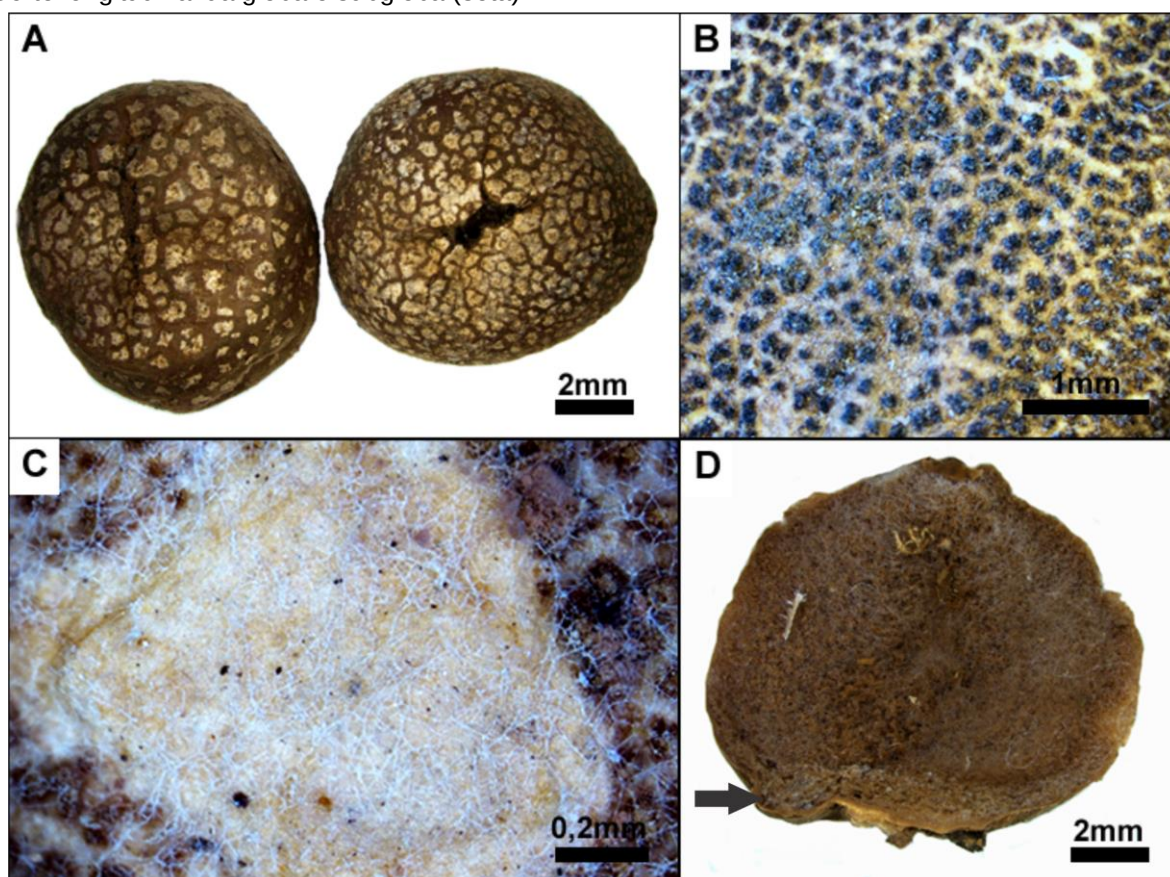
Fotos: A-E, G: Ana C.M. Rodrigues (2013), F: Bianca D.B. Silva (2014).

Os basidiomas desses fungos geralmente são compostos pelo perídio, que é a porção externa do basidioma e tem por função proteger a gleba. Esta última é responsável por produzir as estruturas reprodutivas sexuais dos fungos gasteroides, como basídios e basidiósporos, além de estruturas estéreis, como os capilícios e paracapilícios (Miller & Miller, 1988).

Neste contexto, estão inseridas as espécies do gênero *Bovista*, que são caracterizadas por basidiomas epígeos, globosos a piriformes, com deiscência por

um poro apical, e com rizomorfos que se desprendem do substrato na maturidade (Figura 2A). O perídio em *Bovista* é composto por três camadas: o exoperídio, que é a parte mais externa, o endoperídio, sendo a camada mais interna, e o mesoperídio, localizado entre o exoperídio e o endoperídio (Kreisel, 1967; Dominguez-Toledo, 1993). As camadas do exoperídio e do mesoperídio geralmente são definidas como exoestrato (Kreisel, 1967).

Figura 2 – Aspectos macroscópicos de espécies de *Bovista*. A: Basidioma com exoperídio escamoso e ostíolo irregular. B: Detalhe de um exoperídio verrucoso. C: Detalhe de endoperídio papiráceo. D: Corte longitudinal da gleba e subgleba (seta).



Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2016).

Macroscopicamente, o exoperídio é definido como fino, flácido e evanescente, descamando-se em “flocos” na maturidade, com ornamentações que podem variar de granuladas a escamosas (Figura 2B). O endoperídio é persistente, geralmente papiráceo ou coriáceo, podendo exibir aparência metálica (Figura 2C). Sua deiscência ocorre de forma regular (ex. *Bovista limosa* Rostr.) ou irregular (ex. *Bovista delicata* Berk. & M.A. Curtis) através de uma abertura apical denominada ostíolo (Cunningham, 1944; Kreisel, 1964).

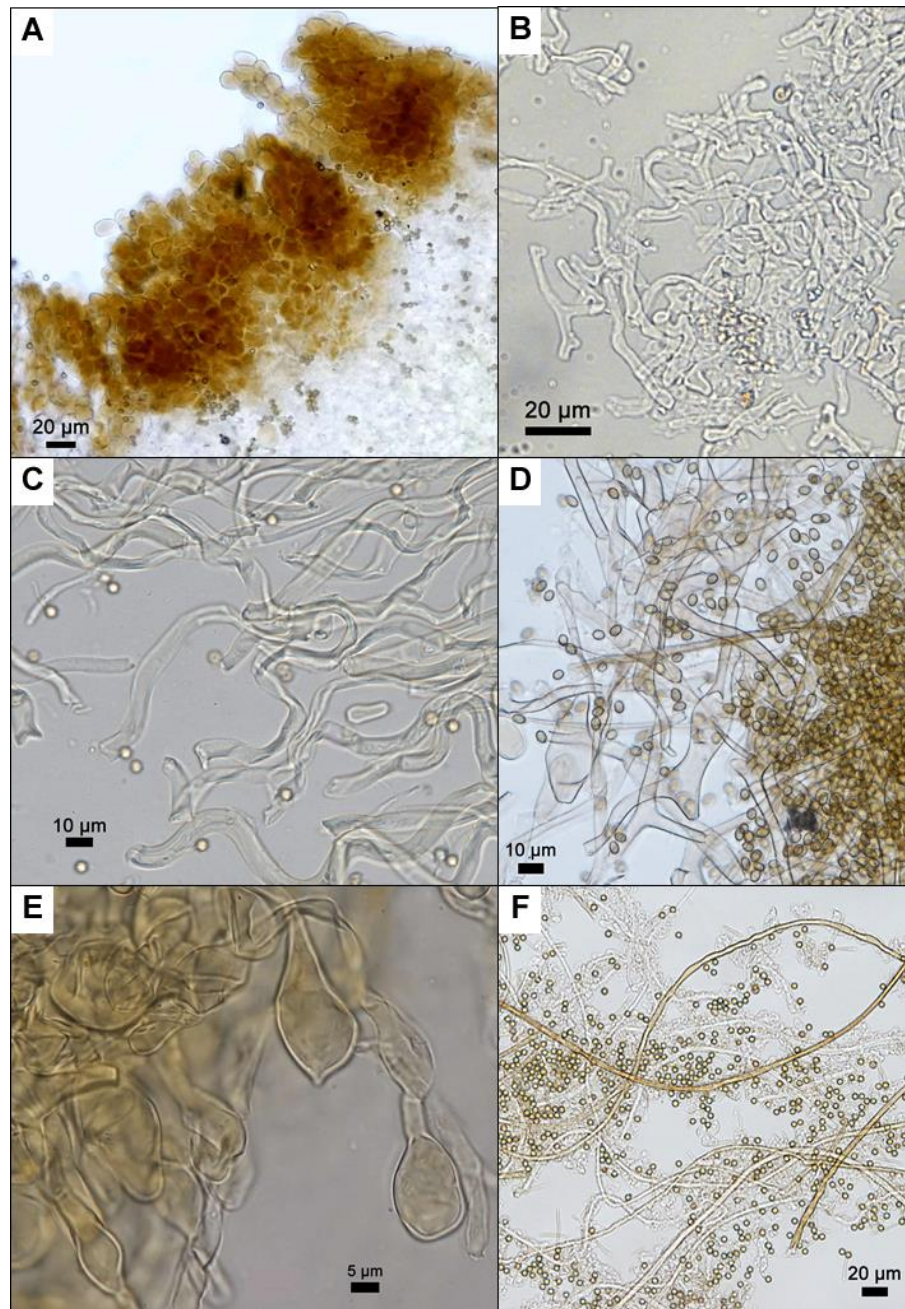
Outra característica macroscópica observável em *Bovista* é a presença ou ausência de subgleba, uma estrutura estéril localizada logo abaixo da gleba. A subgleba, quando presente é sempre compacta, todavia, em algumas espécies ela pode se apresentar de forma cotonosa ou lanosa (Figura 2D). A pseudocolumela, estrutura formada por hifas compactadas ou hifas dispostas radialmente presentes em basidiomas maduros, é ausente em *Bovista*, mas é observada em *Lycoperdon* Pers.

Em relação aos caracteres microscópicos, são observadas a composição do perídio – exoperídio, mesoperídio e endoperídio – além das estruturas férteis e estéreis da gleba. O exoperídio pode se apresentar de duas formas: (a) hifálica, com hifas bastante quebradiças e/ou septadas; ou (b) pseudoparenquimatosa, cujas hifas exibem morfologia variada, desde formas globosas a piriformes ou ainda vesiculares, e geralmente estão organizadas em forma de cadeia (Figura 3A, B). Já o mesoperídio, quando presente, se encontra logo abaixo ao exoperídio e é formado por hifas ou por células pseudoparenquimatosas justapostas.

O endoperídio, por sua vez, é sempre hifálico com filamentos longos, podendo apresentar septos falsos ou ausência de septos (Figura 3C). Algumas espécies podem apresentar outras estruturas no perídio que facilitam a dispersão dos basidiósporos como os micoesclereídeos (Figura 3D) e as células infladas (Figura 3E), estes presentes no exoperídio ou no endoperídio.

De acordo com Kreisel (1962), *Bovista* apresenta quatro tipos de perídio: 1) Tipo-plumbea, composto por exostrato essencialmente hifálico e septado, que surge tangencialmente ao endoperídio (ex. *Bovista plumbea* Pers.); 2) Tipo-pusilla, em que o exostrato é pseudoparenquimatoso, com células geralmente globosas, em cadeia, mas as células finais são clavadas ou elipsoides (ex. *Bovista pusilla* (Batsch) Pers.); 3) Tipo-acuminata, é uma estrutura incomum vista apenas em *B. acuminata* (Bosc) Kreisel, no qual todas as células são clavadas; 4) Tipo-velutina, cujo o exostrato é composto por hifas curvadas e ramificadas, com formas lanceoladas em suas pontas, sendo visualizada em *B. ochrotricha* Kreisel.

Figura 3 – Microestruturas de *Bovista*. A: Exoperídio pseudoparenquimatoso. B: Exoperídio hifático. C: Endoperídio. D: Micoesclereídeos. E: Células infladas do endoperídio. F: Eucapilícios e paracapilícios.

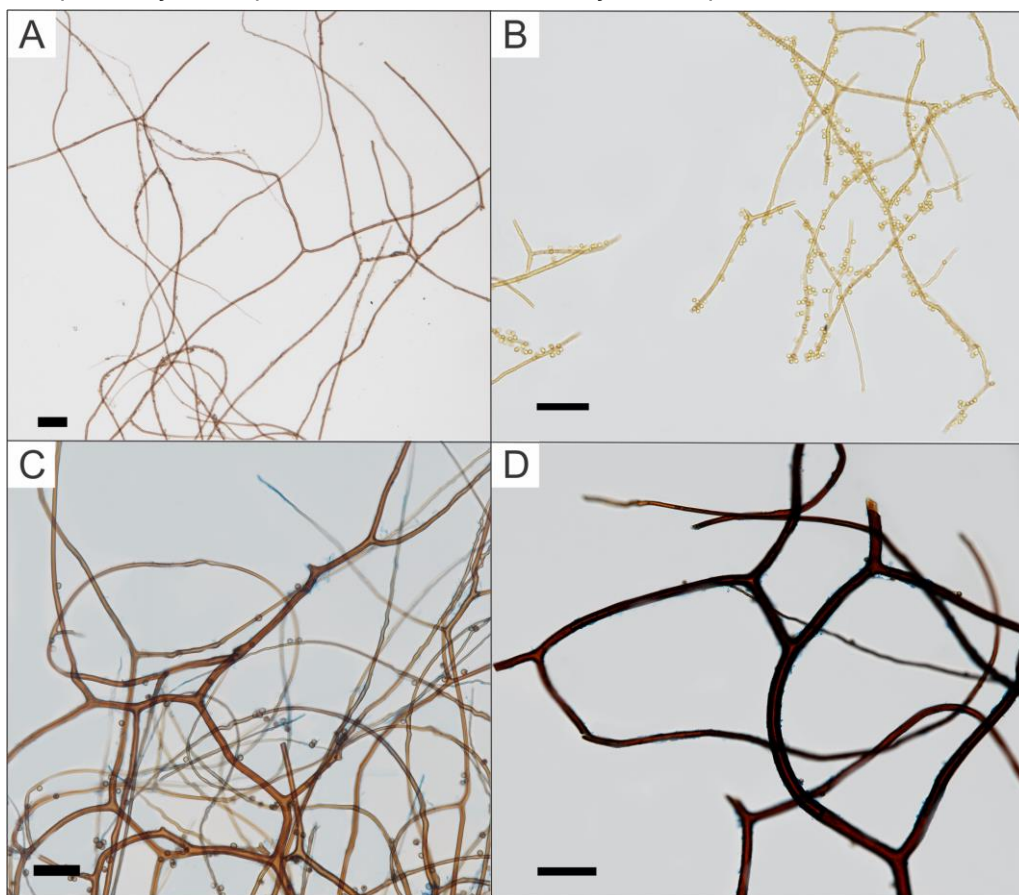


Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2016).

Na gleba, que é a porção fértil dos fungos gasteroides, são encontradas as microestruturas reprodutivas sexuais – basídios e basidiósporos. Quando imatura, a gleba é branca e maciça. Nesta fase do desenvolvimento observam-se os basídios, que são do tipo holobasídio, e estão posicionados assimetricamente no basidioma. Em virtude da ausência do apêndice hilar nos fungos gasteroides, os basidiósporos muitas vezes são liberados passivamente junto com parte do esterigma, compondo os pedicelos. Quando atinge a maturidade, a gleba pode ser tornar pulverulenta ou

cotonosa, e nela poderão ser visualizados os basidiósporos e os filamentos estéreis, denominados capilícios e paracapilícios (Figura 3F).

Figura 4 – Tipos de capilício encontrados no gênero *Bovista*. A: Tipo-lycoperdon elástico. B: Tipo-lycoperdon quebradiço. C: Tipo-intermediário ou de transição. D: Tipo-bovista.

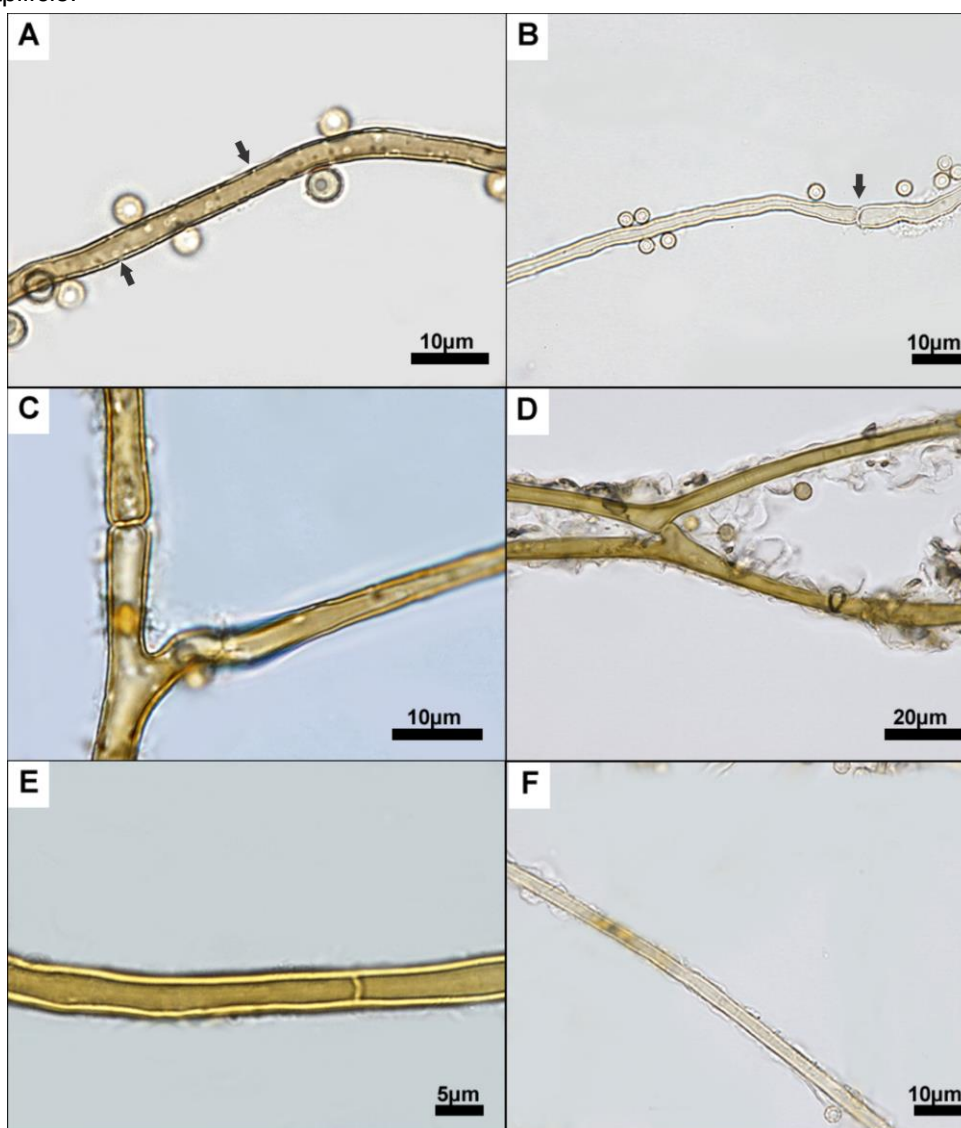


Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2016).

Os capilícios, também conhecidos como capilícios verdadeiros ou eucapilícios, são compostos por hifas esqueléticas ou conectivas e em *Bovista* podem ser encontrados até três tipos: tipo-bovista, tipo-intermediário (ou de transição), e tipo-lycoperdon (Kreisel, 1967; Krüger *et al.*, 2001). O capilício do tipo-bovista é composto por hifas conectivas, acomodadas em unidades; apresentam um ramo principal distinto de parede espessa do qual partem as demais ramificações, que geralmente possuem as extremidades delgadas (Figura 4A). O capilício do tipo-lycoperdon é caracterizado por apresentar hifas esqueléticas e não dispõem de um ramo principal; podem ser elásticas (Figura 4B), subelásticas ou quebradiças (Figura 4C), e as ramificações são dicotômicas com extremidades delgadas. O capilício do tipo-intermediário é considerado uma transição entre os capilícios do tipo-bovista e do tipo-lycoperdon, sendo composto por hifas elásticas, com ramos principais

distintos e de parede espessa que são conectados por ramificações geralmente dicotômicas (Figura 4D). Algumas espécies de *Bovista*, podem exibir ainda um capilício heteromórfico (ex. *B. californica* Kreisel), ou seja, podem mesclar dois tipos de capilício na gleba, geralmente sendo do tipo-lycoperdon e do tipo-intermediário (Kreisel, 1964).

Figura 5 – Aspectos microscópicos da gleba. A: Poros no capilício (setas). B: Septo verdadeiro (setas). C: Ramificação subseptal. D: Ramificação anifseptal com elementos glebais. E: Septo falso. F: Paracapilício.



Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2016).

É possível observar ainda nos capilícios, estruturas relevantes para a identificação de espécies de *Bovista*, como poros e septos (Figura 5). Os poros são perfurações visualizadas na parede no capilício e sua presença ou ausência, bem como sua frequência são importantes para a taxonomia do grupo (Kreisel, 1964).

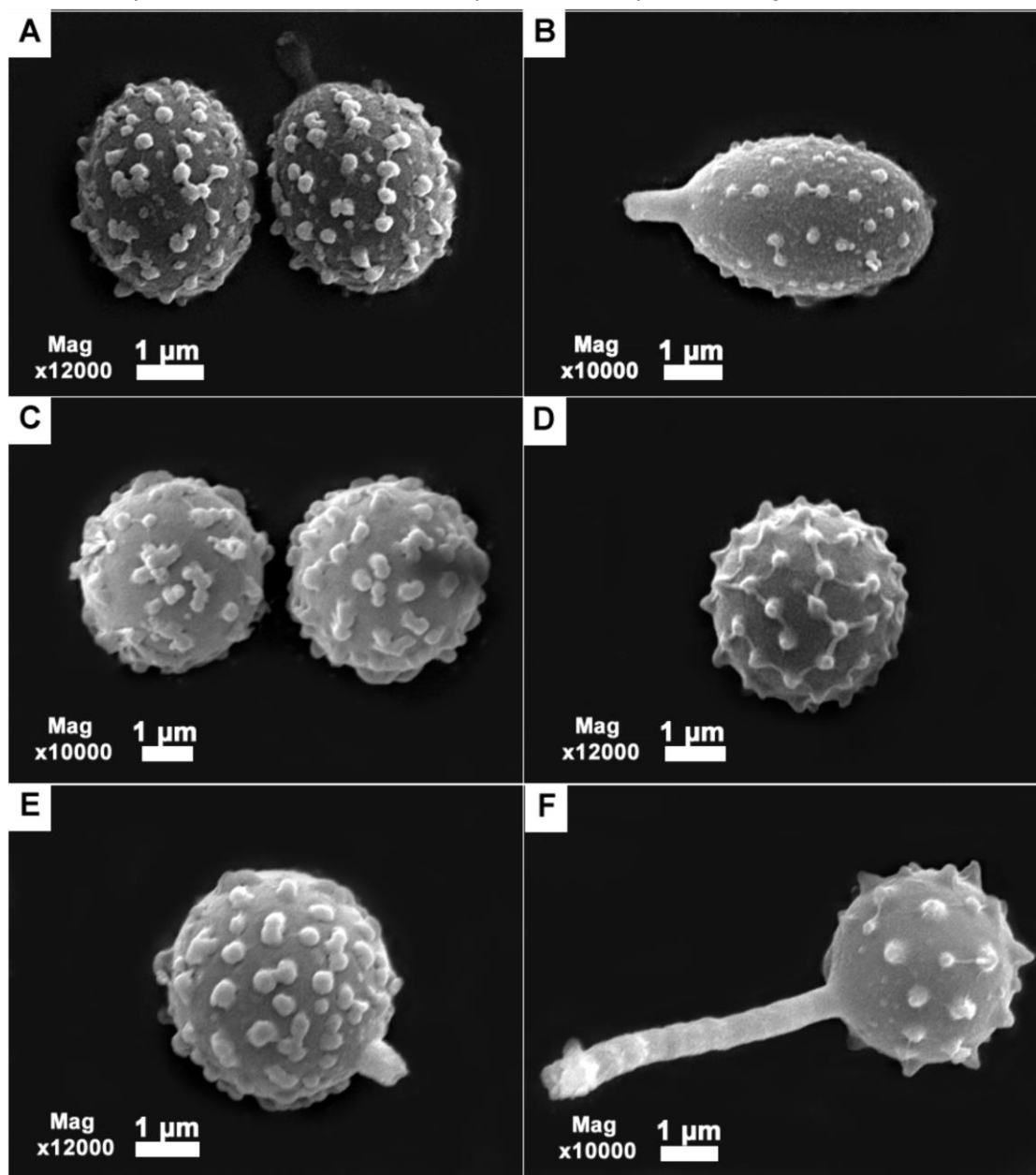
Segundo Kreisel (1967), os poros são classificados quanto ao seu tamanho, podendo ser pequenos ($0,1\text{--}1\text{ }\mu\text{m}$) ou grandes (> 1 e geralmente até $1,5\text{ }\mu\text{m}$) (Figura 5A). Algumas espécies, como *B. grandipora* Trierv.-Per., Kreisel & Baseia e *Bovista delicata*, exibem poros maiores que $1,5\text{ }\mu\text{m}$. Os poros são visualizados tanto em microscópio óptico (MO) quanto em microscópio eletrônico de varredura (MEV).

A presença de septos verdadeiros ou falsos é outro dos caracteres considerados taxonomicamente significantes para o gênero *Bovista* (Kreisel, 1967). Os septos verdadeiros são definidos como constrições na parede do capilício que são capazes de se romper quando atingem sua elasticidade máxima (Figura 5B). Os septos verdadeiros são responsáveis por formar ramificações específicas – ramificações subseptais e anfi-septais – e, geralmente, estão localizadas próximas às dicotomias do capilício.

O paracapilício, que são hifas filamentosas de paredes delgadas, geralmente apresentando septos falsos e membranas glebais também é outro componente que pode estar presente na gleba de representantes de *Bovista* (Figura 5F). Entretanto, apenas poucas espécies possuem paracapilício na gleba (ex. *Bovista dominicensis* (Massee) Kreisel).

Os basidiósporos também são fundamentais para a identificação de espécies desse gênero. São observadas tanto a morfologia, que pode variar de globoso a subgloboso ou de oblongo a elipsoide, quanto sua ornamentação, podendo apresentar desde superfícies lisas a verrucosas ou equinuladas (Figura 6A–6D). Esses basidiósporos podem possuir pedicelos, que variam de tamanho (Figura 6E, F). Algumas ornamentações não são visualizadas em microscópio óptico, sendo recomendado o uso da MEV.

Figura 6 – Morfologia dos basidiósporos de *Bovista*. A: Subgloboso e verrucoso. B: Oblongo e verrucoso com pedicelo curto. C: Globoso e verrucoso. D: Globoso e equinulado. E: Globoso e verrucoso com pedicelo curto. F: Globoso e equinulado com pedicelo longo.



Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2016).

2.2 HISTÓRICO DO GÊNERO *BOVISTA*

2.2.1 Aspectos morfológicos

O termo “*Bovista*” foi citado pela primeira vez pelo botânico britânico Johann Jacob Dillenius (1719) para se referir aos *puffballs*. Embora ambas apresentem o mesmo significado – crepitação de lobo – diferem na origem, sendo a primeira alemã e a segunda inglesa. Dillenius descreveu ainda uma espécie, denominada “*Bovista maxima alba*” e a partir de então, passou-se a considerar a existência do gênero

Bovista. Entretanto, sabe-se atualmente que a espécie descrita é, na realidade, uma espécie de *Calvatia*, sendo desconsiderada, portanto, a publicação de Dillenius (Kreisel, 1967).

Persoon (1794) delimitou o gênero *Bovista* agrupando genericamente qualquer espécie de *puffball* que não apresentasse subgleba, incluindo representantes de *Calvatia* Fr., *Disciseda* Czern., *Lycoperdon* Pers. e *Mycenastrum* Desv. (Lloyd, 1902; Cunningham, 1925). Dois anos depois, Persoon (1796) incluiu *Bovista* na classe ‘Dermatocarpi’, separando-o de *Lycoperdon* por apresentar um exoperídio efêmero, endoperídio com abertura irregular e ausência de subgleba, propondo *Bovista plumbea* Pers. como a espécie-tipo do gênero.

Em *Synopsis Methodica Fungorum*, Persoon (1801) descreve *Bovista* com exoperídio branco e evanescente, endoperídio liso com deiscência irregular e gleba roxo amarronzada. Nessa obra são consideradas quatro espécies do gênero: *B. nigrescens* Pers. (= *Lycoperdon globosum* Bolt.; *L. arrhizon* Batsch.), *B. plumbea* (= *L. ardesiaceum* Bull.), *B. pusilla* (≡ *L. pusillum* Batsch.) e *B. furfuracea* (≡ *L. furfuraceum* Gmel.; *L. sphaericum album* Mich.).

Elias Magnus Fries (1823), em sua obra *Systema Mycologicum*, incluiu o gênero na classe Gasteromycetes, e separou-o de *Lycoperdon* por apresentar quatro características principais: exoperídio inconspícuo e evanescente, endoperídio papiráceo e persistente, gleba subcompacta e homogênea, e basidiósporos pedicelados. Foram consideradas seis espécies, das quais somente *B. plumbea* e *B. nigrescens* permanecem na atualidade como espécies do gênero; *B. clavata* Fr., *B. tunicata* Fr., *B. suberosa* Fr. e *B. uteriformis* (Bull.) Fr. (≡ *L. utriforme* Bull.) foram propostas como novas espécies. Ainda no mesmo trabalho, Fries sinonimiza *Bovista maxima alba* Dill. em *Lycoperdon Bovista (giganteum)*, e *B. pusilla* (Batsch.) Pers. em *L. pusillum* Batsch.

Durante o período de 1823 a 1857, dezenove novas espécies de *Bovista* foram descritas através de grandes contribuições como de M.J. Berkeley, J.H. Léveillé, J.F.C. Montagne e L.D. Schweinitz. Contudo, diversas identificações taxonômicas se tornaram duvidosas, pois além de não serem evidentes os caracteres considerados para reconhecer uma espécie de *Bovista*, ainda existia a afinidade morfológica com *Lycoperdon*.

O pesquisador alemão H.F. Bonorden (1857), observou que as origens do capilício eram distintas nos gêneros *Bovista* e *Lycoperdon*. No primeiro, o capilício

surgia de qualquer posição do endoperídio e, no segundo se desenvolvia a partir da subgleba. Além disso, foram reveladas outras três diferenças: os basidiósporos em *Bovista* são pedicelados, o exoperídio é liso e evanescente, e o capilício é compacto e homogêneo, enquanto em *Lycoperdon* os basidiósporos são apedicelados, o exoperídio é verrucoso a espinhoso, e o capilício é elástico e irregular (Tabela 1).

Tabela 1 – Características do gênero *Bovista* de acordo com os autores C.H. Persoon, E.M. Fries, H.F. Bonorden e G. Massee.

	Persoon (1796-1801)	Fries (1821)	Bonorden (1857)	Massee (1888)
Exoperídio	Branco e evanescente	Inconspícuo e evanescente	Liso e evanescente	Evanescente
Endoperídio	Liso	Papiráceo e persistente	Sem dado	Persistente
Deiscência	Irregular	Irregular	Irregular	Regular ou irregular
Gleba	Sem dado	Subcompacta e homogênea	Compacta e homogênea	Sem dado
Subgleba	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Capilício	Sem dado	Sem dado	Surgindo de qualquer parte da gleba	Surgindo de qualquer parte da gleba
Basidiósporos	Sem dado	Pedicelados	Pedicelados	Pedicelados ou apedicelados

Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2019).

A partir disso, naturalistas estudaram a estrutura dos capilícios de diversos gêneros de Lycoperdaceae e observaram que alguns deles apresentavam septos e poros (de Bary, 1866; Hesse, 1876). As estruturas micro morfológicas foram consideradas, então, caracteres importantes para a definição e separação de *Bovista* e *Lycoperdon*, tendo *Bovista* um capilício em unidades, caracterizado por um corpo principal espesso de onde partem as ramificações e *Lycoperdon* um capilício elástico e com ramificação dicotômica.

Diante do grande número de espécies de *Bovista* publicadas, Massee (1888) propôs a primeira revisão do gênero, estabelecendo características utilizadas por

outros pesquisadores, como: exoperídio frágil e evanescente, endoperídio persistente, deiscência por um ostíolo definido ou irregular, capilício surgindo de qualquer parte do endoperídio, além da morfologia dos basidiósporos. Nesse trabalho foram incluídas 39 espécies distribuídas em três grupos baseadas principalmente na morfologia dos basidiósporos: 1) basidiósporos globosos, equinulados a aculeados; 2) basidiósporos globosos e lisos; 3) basidiósporos elípticos (Tabela 1). Todavia, apesar de considerar esse caractere importante, Massee esclareceu que somente ele não seria confiável para a separação natural das espécies, devido a variação morfológica do basidiósporo conforme sua maturação.

Mesmo diante da inclusão de novos caracteres, o conceito de *Bovista* continuou a reunir diversas espécies de *puffballs* que não apresentavam subgleba, como espécies de *Mycenastrum* e *Calvatia*. Segundo Cunningham (1925), as principais características morfológicas observáveis em *Bovista*, foram elaboradas por Morgan (1892). Neste trabalho foram propostos dois novos gêneros de *puffballs*: *Bovistella* Morgan, um gênero semelhante morfológicamente à *Bovista*, caracterizado pela presença de capilício do tipo-bovista, deiscência através de uma abertura regular e subgleba celular; e *Catastoma* Morgan, apresentando basidiomas inicialmente hipógeos, com a parte inferior coberta por substrato (*sandcase*), capilício do tipo-lycoperdon, deiscência regular e subgleba ausente. Atualmente o gênero *Catastoma* é considerado sinônimo de *Disciseda* Czern. (Morgan, 1892; Hollós, 1904; Silva & Baseia, 2014).

O surgimento de *Bovistella* trouxe ainda mais dificuldades para a delimitação morfológica de *Bovista*, visto que a única diferença entre esses gêneros é a presença de subgleba celular em *Bovistella*. Para Lloyd (1902, 1906) essa característica não seria informativa o suficiente para separar esses dois gêneros, propondo então, duas novas características – o hábito e a dispersão dos basidiósporos.

Diante desses novos argumentos, Lloyd (1902) propõe uma nova classificação em que *Bovistella* e *Lycoperdon* estão incluídos na subfamília Lycoperdae – compreendendo aos verdadeiros *puffballs* – e *Bovista* pertencendo a subfamília Bovistae, denominados *tumblers* em virtude do seu desprendimento do substrato. Os representantes de *Bovistae* apresentavam forma geralmente globosa,

subgleba ausente e endoperídio persistente e firme, sendo estes componentes importantes na dispersão dos basidiósporos (Tabela 2).

Tabela 2 – Delimitação dos gêneros *Bovista*, *Bovistella* e *Lycoperdon* após a classificação proposta por Lloyd (1902).

	<i>Bovista</i> Pers.	<i>Bovistella</i> sensu Morgan	<i>Bovistella</i> sensu Lloyd	<i>Lycoperdon</i> Pers.
Exoperídio	Evanescente	Subpersistente; flocoso	Evanescente	Subpersistente; espinhoso, verrucoso ou granuloso
Endoperídio	Membranáceo a papiráceo	Membranáceo	Flácido	Membranáceo a papiráceo
Deiscência	Regular ou Irregular	Regular	Regular	Regular
Subgleba	Ausente	Celular	Ausente ou celular	Celular
Capilício	Tipo-bovista	Tipo-bovista	Tipo-bovista	Tipo- lycoperdon
Basidiósporos	Globosos ou ovoides	Globosos ou ovoides, pedicelados ou apedicelados	Globosos, pedicelados	Globosos, ovoides ou elípticos; apedicelados
Dispersão	Desprende do substrato	Sem dado	Não desprende do substrato	Não desprende do substrato

Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2019).

Alguns autores consideram *Bovistella* como um gênero intermediário entre *Bovista* e *Lycoperdon*, diferenciando-o de *Bovista* pelo modo de dispersão e não pela presença de subgleba celular, como foi proposto inicialmente por Morgan. A delimitação de *Bovistella*, no entanto, trouxe dificuldades para a delimitação morfológica dos três gêneros (Fischer, 1900, 1933; Lloyd, 1902, 1906; Cunningham, 1925; Coker & Couch, 1928; Zeller, 1949).

Na metade do século XX, houve grandes contribuições para o entendimento de Lycoperdaceae e, conseqüentemente, para o gênero *Bovista*. Em uma revisão da

família para a Holanda, Perdeck (1950) caracteriza *Bovista* de acordo com o hábito, a presença de subgleba e o capilício. Contudo, uma das maiores contribuições para a definição morfológica do gênero foi dada pelo pesquisador alemão Hanns Kreisel (1962, 1964, 1967), através de revisões das coleções de espécies-tipo de gêneros de Lycoperdaceae, com ênfase em *Bovista*, *Bovistella* e *Lycoperdon*. Considerando as características propostas por Lloyd (1902), com exceção do hábito, Kreisel (1964) acrescentou as estruturas macroscópicas da subgleba (compacta ou celular), as estruturas microscópicas do exoperídio (exoestrato), além da presença ou ausência de pseudodiafragma e pseudocolumela (Tabela 3).

Tabela 3 – Delimitação dos gêneros *Bovista*, *Bovistella* e *Lycoperdon* após a classificação de Kreisel (1962).

	<i>Bovista</i> Pers.	<i>Bovistella</i> Morgan	<i>Lycoperdon</i> Pers.
Exoperídio	Duas camadas, a mais externa hifálica	Duas camadas, a mais externa pseudoparenquimatosa	Uma ou duas camadas, a mais interna pseudoparenquimatosa
Endoperídio	Papiráceo	Flácido	Membranáceo a papiráceo
Deiscência	Regular ou Irregular	Regular	Regular
Subgleba	Ausente ou compacta	Celular	Ausente, compacta ou celular
Capilício	Tipo-bovista	Tipo-bovista	Tipo-lycoperdon
Basidiósporos	Globosos ou ovóides, pedicelados	Globosos, pedicelados	Globosos, ovóides ou elípticos; apedicelados
Pseudodiafragma	Ausente	Presente	Ausente
Pseudocolumela	Ausente	Ausente	Presente

Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2019).

Kreisel (1967) considerou 46 espécies dentro do gênero *Bovista*. Nesse trabalho, foram definidas novas características para o gênero, como a presença de capilício do tipo-lycoperdon e do tipo-intermediário, a presença ou ausência de

septos no capilício, além da micro morfologia do perídio. Baseado nesses caracteres, Kreisel propõe uma nova classificação para o gênero, separando-o em dois subgêneros: *Globaria*, incluindo espécies com capilício do tipo-lycoperdon ou intermediário, exoperídio granuloso-espinhoso ou furfuráceo-areolado e endoperídio papiráceo e flácido; e *Bovista*, com seus representantes possuindo capilício tipo-bovista, exoperídio liso ou furfuráceo-areolado e endoperídio papiráceo a coriáceo, rígido e áspero.

Com esse rearranjo, Kreisel transferiu muitas espécies de *Lycoperdon* e, principalmente de *Bovistella* para *Bovista*, acomodando as espécies estudadas em seis seções e oito séries (Tabelas 4, 5). Kreisel (1967) sugeriu ainda, a provável relação filogenética entre membros de Lycoperdaceae e Agaricaceae, uma vez que algumas espécies de *Lycoperdon* dispunham de características morfológicas semelhantes à *Lepiota lycoperdoides* Kreisel, uma espécie lamelada.

Tabela 4 – Classificação do gênero *Bovista*, ao nível de subgêneros e seções, de acordo com Kreisel (1967).

	Capilício	Ostíolo	Subgleba
Subgen. <i>Globaria</i>			
Seção <i>Globaria</i>	Tipo-intermediário ou heteromórfico	Simples	Ausente ou presente
Seção <i>Lagoperdon</i>	Tipo-lycoperdon	Simples	Ausente ou presente
Seção <i>Xyloperdon</i>	Tipo-lycoperdon	Cônico	Ausente
Seção <i>Geastroma</i>	Heteromórfico	Cônico (tipo-geastrum)	Ausente
Subgen. <i>Bovista</i>			
Seção <i>Bovista</i>	Tipo-bovista	Simples	Ausente
Seção <i>Nanobovista</i>	Tipo-bovista	Simples	Ausente ou presente

Fonte: Adaptado Kreisel (1967).

Tabela 5 – Classificação das espécies de *Bovista* ao nível de séries de acordo com Kreisel (1967).

	Subgleba	Poros no capilício	Basidiósporos pedicelados
Seção <i>Lagoperdon</i>			
Série <i>Trachysporae</i>	Ausente	Ausentes	Presentes

Série <i>Pusillae</i>	Ausente	Pequenos e grandes	Presentes ou ausentes
Série <i>Asperae</i>	Presente	Pequenos	Presentes ou ausentes
Seção <i>Globaria</i>			
Série <i>Albosquamosae</i>	Presente ou ausente	Ausentes	Presentes ou ausentes
Série <i>Polymorphae</i>	Presente ou ausente	Presentes	Ausentes
Seção <i>Nanobovista</i>			
Série <i>Fuscae</i>	Presente ou ausente	Ausentes	Presentes
Série <i>Globisporae</i>	Ausente	Pequenos	Presentes
Série <i>Ovisporae</i>	Ausente	Grandes	Presentes

Fonte: Adaptado Kreisel (1967).

O conceito de *Bovista* proposto por Kreisel foi aceito por muitos taxonomistas, entretanto, foram propostas algumas modificações ao longo dos anos. Calonge & Demoulin (1975) revisaram a taxonomia e a nomenclatura de cinco espécies incluídas na monografia de Kreisel (1967), sendo elas: *Bovista colorata* (Peck) Kreisel, *B. polymorpha* (Vitt.) Kreisel, *B. pusilliformis* (Kreisel) Kreisel, *B. dakotensis* (Brenckle) Kreisel e *B. pusilla* (Batsch.) Pers. sensu Kreisel 1967. Observando os critérios taxonômicos, concluíram que todas essas espécies correspondiam a somente dois nomes – *B. dermoxantha* (Vitt.) Toni e *Lycoperdon aestivale* Bonord.

Posteriormente, Demoulin (1979) propôs duas combinações: *Bovista aestivalis* (Bonord.) Demoulin (= *Lycoperdon coloratum* Peck; *L. pusilliforme* Kreisel; *B. polymorpha* Kreisel sensu Kreisel 1967; *B. dakotensis* (Brenckle) Kreisel), e *B. dryina* (Morgan) Demoulin (= *B. colorata* sensu Kreisel 1967; *L. septinum* Lloyd). Todavia, Kreisel & Calonge (1996) reavaliaram a espécie-tipo de *L. septinum* coletada no Equador e propuseram *B. septina* (Lloyd) Kreisel & Calonge como uma espécie diferente de *B. dryina* (Morgan) Demoulin.

Ortega & Buendía (1985) analisaram as espécies-tipo de *B. longispora* Kreisel e *B. oblongispora* (Lloyd) Bottomley e observaram que as únicas diferenças entre essas espécies eram a presença de poros no capilício e os basidiósporos elipsoides. Por não possuírem características suficientes para separar duas espécies, propuseram uma nova variedade de *B. oblongispora*: *B. oblongispora* var.

longispora (Kreisel) A. Ortega & Buendía. Apesar de *B. promontorii* Kreisel apresentar caracteres semelhantes à *B. oblongispora*, os autores decidiram mantê-las como espécies distintas. Contudo, Coetzee & van Wyk (2005), analisaram a espécie-tipo de *B. promontorii* e concluíram que era idêntica a *Lycoperdon capense* Fr., propondo a sinonimização de *B. promontorii* e uma nova combinação: *Bovista capensis* (Fr.) J.C. Coetzee & A.E. van Wyk.

Lange (1987) propôs mudanças drásticas na classificação de Kreisel (1964, 1967), como a exclusão do subgênero *Globaria*. Segundo o autor, as espécies incluídas neste subgênero não compartilham características com *B. plumbea*, espécie-tipo de *Bovista*, mas com diversas espécies de *Lycoperdon*. Dessa forma, a ausência de caracteres, como a pseudocolumela e a subgleba celular, não seriam características significativas para propor um subgênero. O gênero *Bovista* foi, portanto, restrito a espécies com capilício tipo-bovista ou tipo-intermediário, exoperídio de duas camadas, endoperídio persistente e com uma abertura definida, e presença de subgleba compacta. Baseado principalmente na composição do perídio e dos basidiósporos, Lange (1987) propôs ainda a mudança de *B. limosa* Rostr., anteriormente alocada na seção *Geastroma*, para o gênero *Bovista*.

Ortega & Buendía (1989) analisaram as espécies-tipo de *B. colorata*, *B. dakotensis*, *B. polymorpha* e *B. pusilliformis* e coleções da Península Ibérica sob o nome de *B. aestivalis*. Baseado principalmente em basidiósporos ornamentados por verrugas e na presença de capilício heteromórfico (tipo-lycoperdon e tipo-intermediário) confirmaram a identidade de *B. aestivalis* e propuseram uma nova variedade: *B. aestivalis* var. *perverrucispora* A. Ortega & Buendía.

Rebriev (2012) revisou oito espécies-tipo de *Bovista* propostas por Shvartsman & Philimonova (1970) para o Cazaquistão. Através de estudos macro e micro morfológicos e da análise dos protótipos, concluiu que *B. kurchumensis* Philim. & Vasyag. era um sinônimo de *B. nigrescens*, *B. kurgaldzhinica* Schwarzman & Philim., *B. leonoviana* Philim. & Vasyag., *B. schwarzmanniana* Philim., *B. vassjaginiana* Philim. & Schwarzman, *B. betpakdalina* Schwarzman & Philim., e *B. grisea* Schwarzman & Philim. se tratava de sinônimos de *B. plumbea*. Somente *B. kazakhstanica* Schwarzman & Philim. permaneceu como uma espécie duvidosa.

Após a publicação da monografia de *Bovista* por Kreisel (1967), 26 novas espécies foram publicadas (Kreisel, 1976; Suárez & Wright, 1994; Kreisel & Hausknecht, 2002, 2006; Calonge et al. 2004, Trierveiler-Pereira & Baseia, 2010;

Yousaf *et al.*, 2013; Jeppson *et al.*, 2016; Rebriev & Dvadenko, 2016; Rebriev *et al.*, 2017; Trierveiler-Pereira *et al.* 2018). Kirk *et al.* (2008) considerou 55 espécies pertencentes a esse gênero.

2.2.2 Aspectos filogenéticos

Diante das diversas espécies publicadas, os taxonomistas continuaram seguindo o amplo conceito de *Bovista* proposto por Kreisel (1967), e aceitando as modificações feitas ao longo dos anos. A principal problemática envolvendo a delimitação morfológica do gênero estava diretamente relacionada as espécies incluídas no subgênero *Globaria*. Kreisel (1967) e Lange (1987) sugeriram uma possível relação entre as espécies deste subgênero e do gênero *Lycoperdon*, caracterizando-o como um grupo intermediário entre os dois gêneros. Ademais, as espécies do subgênero *Bovista* também compartilhavam semelhanças morfológicas com o gênero *Bovistella*, diferenciando-os apenas pela presença de subgleba celular neste último.

Para compreender as relações entre esses gêneros, estudos bioquímicos, ontogênicos e sobretudo moleculares foram realizados a partir da década de 1980. Baseado nos resultados obtidos, diversos autores observaram uma provável relação entre os fungos agaricoides, secotioides e gasteroides (Thiers, 1984; Singer, 1986), questionando a validade da classe Gasteromycetes, na qual Lycoperdaceae esteve inserida durante longo período (Bruns *et al.*, 1989).

A inclusão das ferramentas moleculares como auxílio à taxonomia morfológica, foi responsável pelas profundas modificações na classificação dos fungos em geral e em especial dos fungos gasteroides. Hibbett *et al.* (1997), ao utilizarem sequências nucleares e mitocondriais (nu-SSU e mt-SSU) do DNA ribossomal (rDNA), comprovaram que espécies de Gasteromycetes foram derivadas de linhagens de Hymenomycetes lamelados e não lamelados. As formas gasteroides, portanto, teriam evoluído diversas vezes e independentemente dentro de Agaricomycotina. Confirmada a polifilia da classe, esta foi desprovida de significado taxonômico, sendo denominados a partir de então como fungos gasteroides (Hibbett *et al.*, 1997; Krüger *et al.*, 2001; Bates *et al.*, 2009).

Ao acrescentar outros marcadores moleculares, como 18S e ITS (ITS1–5.8S–ITS2) rDNA, Krüger *et al.* (2001) apresentaram indícios da relação entre

Lycoperdales e Agaricales. O gênero *Bovista* foi confirmado como um grupo monofilético, contudo, não foi possível determinar a monofilia de *Lycoperdon*.

Evidências de que membros de Lycoperdaceae teriam surgido a partir de espécies de *Agaricus* L., *Coprinus* Pers. e *Lepiota* (Pers.) Gray foram suportadas por análises filogenéticas moleculares utilizando marcadores como ITS e LSU nu-rDNA. A posição de Lycoperdaceae foi comprovada como uma linhagem gasteroide monofilética dentro de Agaricales (Hibbett & Thorn, 2001; Moncalvo *et al.*, 2002; Vellinga, 2004). A inserção de novos marcadores moleculares, como as subunidades 1 e 2 da RNA polimerase (*rpb1* e *rpb2*), confirmou a posição dos *puffballs* dentro de Agaricomycotina (Matheny *et al.*, 2006).

Devido ao grande volume de informações reunidas de diversos táxons de fungos, Hibbett *et al.* (2007) propuseram uma nova classificação para o Reino Fungi. Nessa classificação os representantes de Lycoperdales foram reagrupados em Agaricaceae, corroborando trabalhos anteriores.

Krüger & Gargas (2008) sugeriram a utilização da estrutura secundária do ITS2 rDNA como um caractere taxonômico para a compreensão das relações filogenéticas entre membros de Lycoperdaceae. Todavia, devido a insuficiência de amostras não foi possível obter suporte estatístico para comprovar Lycoperdaceae ou mesmo *Bovista* como grupos monofiléticos.

Buscando estabelecer limites e compreender as relações filogenéticas entre os representantes de Lycoperdaceae, Larsson & Jeppson (2008) utilizaram sequências de ITS e LSU de espécies ocorrentes no norte da Europa. Nesse trabalho, foi possível confirmar Lycoperdaceae como um grupo monofilético. Um amplo conceito de *Lycoperdon* foi proposto para acomodá-lo como um grupo monofilético, reconhecendo gêneros tradicionais (ex. *Bovistella*) como subgêneros. Dessa forma, as espécies de *Bovistella* foram reconhecidas por basidiomas urniformes, com pseudodiafragma e subgleba celular. Os gêneros *Bovista* e *Lycoperdon* foram diferenciados pela ausência de pseudocolumela, e pela subgleba compacta ou cotonosa em *Bovista* (Tabela 6). A posição de *B. limosa* dentro do subgênero *Bovista*, proposta baseada somente por caracteres morfológicos por Lange (1987), foi confirmada por Larsson *et al.* (2009). Após essa publicação de Larsson & Jeppson (2008) foram reconhecidos quatro gêneros em Lycoperdaceae – *Bovista*, *Calvatia*, *Disciseda* e *Lycoperdon*.

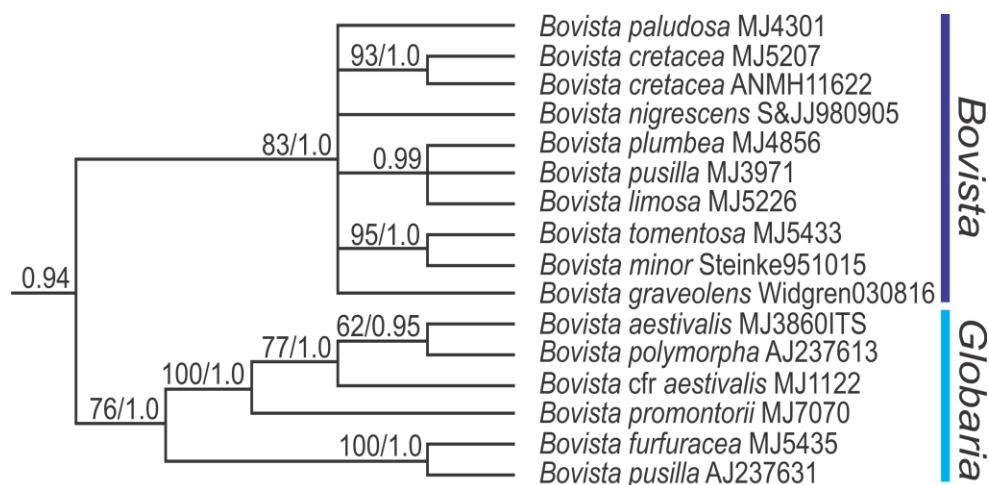
Tabela 6 – Delimitação dos gêneros *Bovista*, *Bovistella* e *Lycoperdon* baseada em caracteres morfológicos e moleculares segundo Larsson & Jeppson (2008).

Gênero	<i>Bovista</i>		<i>Lycoperdon</i>	
Subgênero	<i>Bovista</i>	<i>Globaria</i>	<i>Bovistella</i>	<i>Lycoperdon</i>
Subgleba	Ausente ou presente (compacta ou cotonosa)	Ausente ou presente (compacta ou cotonosa)	Ausente ou presente (compacta ou celular)	Presente (lacunar)
Capilício	Tipo-bovista	Tipo-lycoperdon ou intermediário	Tipo-lycoperdon ou <i>Bovista</i>	Tipo-lycoperdon
Basidiósporos	Pedicelados	Apedicelados	Pedicelados ou apedicelados	Sem dados
Diafragma	Ausente	Ausente	Sem dados	Presente
Pseudodiafragma	Ausente	Ausente	Ausente	Sem dados
Pseudocolumela	Ausente	Ausente	Presente	Sem dados

Fonte: Adaptado Larsson & Jeppson (2008).

As análises demonstraram, ainda, que a inclusão de onze sequências de espécies de *Bovista* também constituíam um grupo monofilético de suporte moderado (0.94 BPP). O gênero apresentou dois clados principais, com suas espécies correspondendo majoritariamente aos subgêneros *Bovista* e *Globaria* propostos por Kreisel (1967) (Figura 7). A posição taxonômica de *B. dermoxantha* (Vittad.) De Toni também foi discutida pelos autores, visto que a espécie se agrupou com *Lycoperdon rupicula* Jeppson, E. Larss. & M.P. Martín, dentro do subgênero *Utraria* (Quél.) Jeppson & E. Larss. Diante disso, *B. dermoxantha* retornou ao nome *L. dermoxanthum* Vittad.

Figura 7 – Árvore de consenso estrito da análise de Máxima Parsimônia com valores de bootstrap e probabilidade posterior.



Fonte: Adaptado de Larsson & Jeppson (2008).

Após a publicação de Larsson & Jeppson (2008), oito espécies novas de *Bovista* foram publicadas: *B. grandipora* Trierv.-Per., Kreisel & Baseia, *B. himalaica* Yousaf, Kreisel & Khalid, *B. hollosii* Jeppson, Finy & E. Larss., *B. helenae* Rebriev, *B. altaica* Rebriev & I.A. Gorbunova, *B. disciseda* Rebriev & I.A. Gorbunova, *B. subcatastoma* Rebriev & I.A. Gorbunova, e *B. kreiselii* Trierv.-Per. & R.M.B. Silveira. (Trierveiler-Pereira *et al.*, 2010; Yousaf *et al.*, 2013; Jeppson *et al.*, 2016; Rebriev & Dvadenko, 2016; Rebriev *et al.*, 2017; Trierveiler-Pereira *et al.*, 2018). Contudo, destas, apenas duas espécies incluem sequências de DNA: *B. himalaica* e *B. hollosii*.

Atualmente 67 sequências identificadas como *Bovista* estão disponíveis no banco de dados do GenBank, tendo como principais marcadores ITS e LSU. Entretanto, apenas 39 sequências são provenientes de exsiccatas, ou seja, as regiões gênicas sequenciadas foram derivadas a partir de basidiomas.

A região ITS do rDNA tem sido utilizada há pelo menos duas décadas como um marcador molecular para a identificação de novas espécies de fungos (Begerow *et al.*, 2010; Dentinger *et al.*, 2011). Essa região demonstrou maior sucesso nas amplificações por PCR, e alta resolução em alguns grupos taxonômicos, quando comparada a outras regiões como LSU, SSU e *rpb1*; dessa forma, a região ITS foi proposta como DNA *barcode* para o Reino Fungi (Schoch *et al.*, 2012). Essa é a região que é utilizada pela base de dados UNITE para identificação automática das espécies (Kõljalg *et al.*, 2013). Quanto aos fungos gasteroides, a região ITS tem

demonstrado ser um bom marcador para a delimitação das espécies nos mais diversos gêneros (Phosri *et al.*, 2013; Baseia *et al.*, 2016, Zamora *et al.*, 2017, Lebel *et al.*, 2018).

Bates *et al.* (2009) afirmaram que, apesar de novas abordagens taxonômicas baseadas em análises moleculares estejam sendo propostas, as revisões taxonômicas não devem ser desconsideradas até que o clado de Lycoperdaceae esteja mais bem resolvido. Por isso, análises filogenéticas integrativas envolvendo múltiplos genes e dados morfológicos são necessárias no intuito de compreender as relações filogenéticas dentro da família.

2.3 O GÊNERO *BOVISTA* NO BRASIL

O estudo do gênero *Bovista* no Brasil, iniciou-se somente no século XX. As primeiras espécies desse gênero citadas para o país foram *B. acuminata* e *B. pusilla*, ambas relatadas por Sydow & Sydow (1907) para São Paulo como *Lycoperdon acuminatum* Bosc. e *L. pusillum* Batsch., respectivamente. Avena-Saccá (1923) mencionou *B. plumbea* para o país, mas a localidade da coleta não foi informada.

As espécies *B. bicolor* Lév., *B. hungarica* Hóllós, *B. longispora*, *B. pusilla* e *B. africana* Kreisel foram relatadas pela primeira vez para o Brasil por Rick (1961) e Homrich (1969). Kreisel (1967) relatou *B. dominicensis* (Massee) Kreisel para Pernambuco. Em um levantamento de fungos macroscópicos feito para o Paraná, de Meijer (2006) citou três espécies: *B. aff. dryina* (Morgan) Demoulin, *B. dermoxantha* e *B. longispora*, esta última anteriormente relatada para o Rio Grande do Sul. *Bovista cunninghamii* Kreisel foi relatada pela primeira vez para o Brasil duas vezes, contudo, de acordo com McNeil *et al.* (2012), a publicação de Alfredo *et al.* (2016) tem preferência sobre a de Trierveiler-Pereira *et al.* (2018).

O *checklist* de fungos gasteroides para o Brasil, proposto por Trierveiler-Pereira & Baseia (2009), considerou dez espécies de *Bovista*. Contudo, nesse levantamento são citadas algumas espécies que atualmente não correspondem a *Bovista*, como *B. bicolor* ($\equiv$ *Calvatia bicolor* (Lév.) Kreisel), *B. dermoxantha* ($\equiv$ *Lycoperdon dermoxanthum*), e *B. acuminata* ($\equiv$ *Bryoperdon acuminatum*), totalizando, na realidade, sete espécies de *Bovista* referidas para o Brasil.

Em levantamento feito posteriormente a publicação de Trierveiler-Pereira & Baseia (2009), foram relatadas quinze espécies para o Brasil (Tabela 7), um acréscimo de 3 espécies. Destas, doze correspondem ao gênero *Bovista* e uma

delas ocorre exclusivamente no país – *Bovista kreiselii* (Trierveiler-Pereira *et al.*, 2018). Das espécies relatadas, seis espécies foram registradas para a região Nordeste, três para a região Sudeste e onze para o Sul do país, sendo *B. aestivalis* e *B. dominicensis* as espécies mais frequentes.

Tabela 7 – Espécies sob o nome *Bovista* relatadas para o Brasil.

Espécie	Estados	Referências
<i>Bovista aestivalis</i> (Bonord.) Demoulin	CE, PR, PE, RS e SP	Baseia (2005a), Alves & Cortez (2013), Rodrigues <i>et al.</i> (2014), Trierveiler-Pereira <i>et al.</i> (2018)
<i>Bovista acuminata</i> (Bosc) Kreisel	RS	Rick (1961, como <i>Lycoperdon acuminatum</i>)
<i>Bovista africana</i> Kreisel	RS	Homrich (1969)
<i>Bovista bicolor</i> Lév.	RS	Rick (1961)
<i>Bovista dermoxantha</i> (Vittad.) De Toni	PR	de Meijer (2006)
<i>Bovista capensis</i> (Fr.) J.C. Coetzee & A.E. van Wyk	PR, RS	Rick (1961, como <i>L. cepiforme</i> var. <i>oblongispora</i>), de Meijer (2006, como <i>B. longispora</i>), Trierveiler-Pereira <i>et al.</i> (2018)
<i>Bovista cunninghamii</i> Kreisel	MG, RS	Alfredo <i>et al.</i> (2016), Trierveiler-Pereira <i>et al.</i> (2018)
<i>Bovista dominicensis</i> (Massee) Kreisel	ES, PR, PE, RS	Kreisel (1967), Homrich (1969), Alves & Cortez (2013), Trierveiler-Pereira <i>et al.</i> (2010), Trierveiler-Pereira <i>et al.</i> (2018)
<i>Bovista</i> aff. <i>dryina</i> (Morgan) Demoulin	PR	de Meijer (2006)
<i>Bovista grandipora</i> Trierv.-Per., Kreisel & Baseia	PE	Trierveiler-Pereira <i>et al.</i> (2010)
<i>Bovista graveolens</i> Schwalb.	RS	Rick (1961, como <i>L. cepiforme</i> var. <i>hungaricum</i>)
<i>Bovista kreiselii</i> Trierv.-Per. & R.M.B. Silveira	RS	Trierveiler-Pereira <i>et al.</i> (2018)
<i>Bovista pila</i> Berk. & M.A. Curtis	PE, RS	Baseia (2005b)
<i>Bovista plumbea</i> Pers.	PE, RS	Baseia (2005b)
<i>Bovista pusilla</i> (Batsch) Pers.	PE, RS	Kreisel, 1967; Homrich, 1969 (como <i>L. pusillum</i> Batsch.)

Fonte: Adaptado de Trierveiler-Pereira & Baseia (2009).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DAS EXSICATAS PARA ANÁLISE

Inicialmente foi realizado um levantamento bibliográfico prévio para localizar em quais herbários as exsicatas de espécies-tipo de *Bovista* e *Bovistella* estavam depositadas. Todos os empréstimos de exsicatas foram obtidos através do herbário UFRN (UFRN-Fungos). Os acrônimos dos herbários seguiram o Index Herbariorum (Thiers, 2019).

Observou-se que mais de 50% das exsicatas de espécies-tipo desses gêneros estavam depositadas em dois herbários: Kew Herbarium (K) e U.S. National Fungus Collections (BPI). Entretanto, devido a importância das coleções, não foi autorizado o empréstimo de espécies depositadas no herbário K. Em relação ao herbário BPI, foram disponibilizadas somente quatro exsicatas de espécies-tipo para a realização desse trabalho.

Foram obtidas, ainda, respostas de quatro herbários brasileiros e sete herbários internacionais – Instituto de Biociências (ICN), Instituto Anchieta (PACA), Pe. Camille Torrend (URM), UFRN-Fungos, BPI, Botanische Staatssammlung München (M), Real Jardín Botánico (MA-Fungi), Macedonian Fungi Collection (MC), The New York Botanical Garden (NY), Instituto de Ecología, A.C. (XAL) e Universität Wien (WU). Priorizou-se o estudo de exsicatas de espécies-tipo, assim como exsicatas com identificações ambíguas, totalizando 172 exsicatas sob o nome *Bovista*, *Bovistella* ou *Lycoperdon* (Anexo 1).

3.2 ANÁLISES MORFOLÓGICAS

As características macro e micro morfológicas dos espécimes foram realizadas no Laboratório de Biologia de Fungos da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Brasil, e no Real Jardín Botánico de Madrid (RJB-CSIC), Espanha.

3.2.1 Caracteres macroscópicos

Os espécimes foram analisados, medidos e fotografados com auxílio dos microscópios estereoscópicos Leica EZ4 e Nikon SMZ15000 com câmera acoplada, utilizando o software NIS-Elements AR 4.00.03 para a captura das imagens e medição de estruturas (Figura 8A, B). Seguindo Kreisel (1967), Demoulin (1972) e

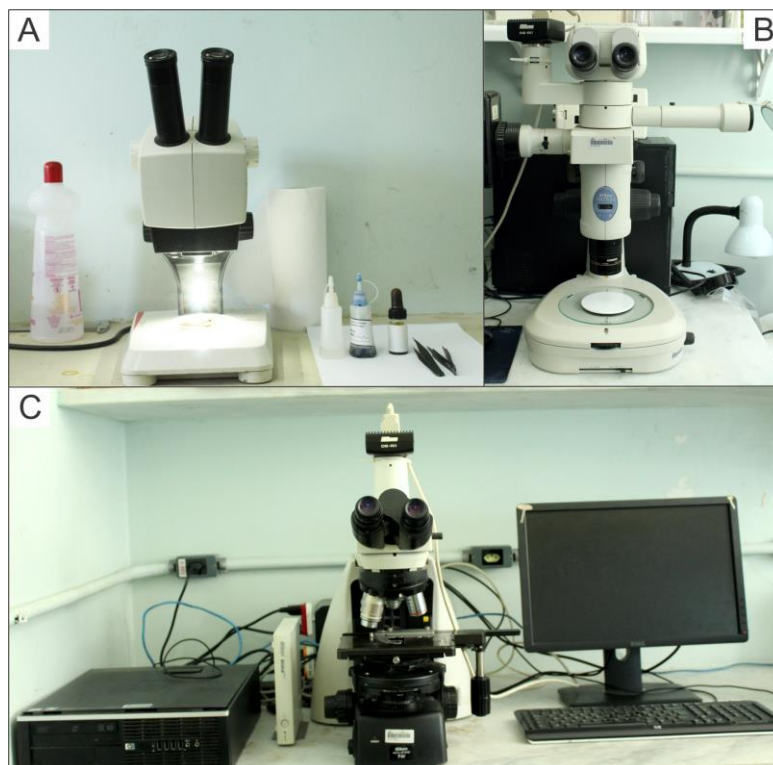
Larsson & Jeppson (2008) foram observados caracteres relevantes para a taxonomia do grupo, como: forma e tamanho dos basidiomas, superfície e textura do perídio, deiscência do endoperídio (abertura regular ou irregular), superfície da gleba (cotonosa ou pulverulenta), e presença ou ausência de subgleba (compacta ou celular). A determinação da coloração foi padronizada utilizando os guias de cores de Kornerup e Wanscher (1978) identificados nas descrições pela sigla KW.

3.2.2 Caracteres microscópicos

Para as análises microscópicas, foram realizados cortes à mão livre das estruturas do perídio e gleba, com o intuito de observar a disposição das camadas do perídio, os capilícios, os paracapilícios e os basidiósporos. Obtidas as amostras, estas foram montadas em lâminas com hidróxido de potássio (KOH) a 5%, com o corante azul de algodão e com o reagente de Melzer (Miller & Miller, 1988), sendo os dois últimos utilizado para observar reações amiloides e dextrinoides, respectivamente. As estruturas foram analisadas, mensuradas e fotografadas com auxílio do microscópio óptico Nikon Eclipse Ni, com câmera acoplada, utilizando o software NIS-Elements AR 4.00.03 para a captura das imagens e para medição das estruturas (Figura 8C). As ornamentações dos basidiósporos e a superfície dos capilícios foram visualizadas também em microscópio eletrônico de varredura (MEV) Shimadzu SSX-550 do Centro de Tecnologia do Gás e Energias Renováveis (CTGÁS-ER), seguindo o protocolo de Silva *et al.* (2011).

Foram mensuradas 30 unidades de cada microestrutura para cada exsicata analisada. Foram consideradas as ornamentações para medidas dos basidiósporos. Dados estatísticos, como as médias de altura e diâmetro dos basidiósporos e o desvio padrão, observados pela fórmula $\bar{x} \pm SD$, foram realizados no programa Excel®. Para padronizar o formato dos basidiósporos, foi aplicado o valor de Q_m , que é média de todos os valores de altura e diâmetro da estrutura analisada. De acordo com os valores de Q_m proposto por Bas (1969), foi possível determinar se os basidiósporos eram: globosos ($Q_m = 1,00-1,05$), subglobosos ($Q_m = 1,05-1,15$), levemente elipsoides ($Q_m = 1,15-1,30$), elipsoides ($Q_m = 1,30-1,60$), alongados ($Q_m = 1,60-2,00$), cilíndricos ($Q_m = 2,00-3,00$) ou baciliformes ($Q_m > 3,00$).

Figura 8 – Equipamentos utilizados para a análise morfológica. A: Microscópio estereoscópico. B: Microscópio estereoscópico com câmera acoplada. C: Microscópio óptico com câmera acoplada.



Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2019).

A identificação morfológica dos espécimes seguiu as publicações de Kreisel (1964, 1967), Demoulin (1972), Calonge & Demoulin (1975), Ortega & Buendía (1985, 1989), Lange (1987), Calonge (1992), Moyersoen & Demoulin (1996), e Larsson & Jeppson (2008). A terminologia micológica teve como base Kirk *et al.* (2008) e McNeil *et al.* (2012).

3.3 ANÁLISES MOLECULARES

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Biologia Celular e Genética de Plantas da UFRN, e no Laboratório de Biologia Molecular do RJB–CSIC. Foram priorizadas exsiccatas de espécies-tipo e outras exsiccatas nas quais os basidiomas apresentavam bom estado de conservação. Para evitar contaminação das amostras, foram selecionados, quando possível, apenas basidiomas maduros que possuíam abertura pelo poro apical.

3.3.1 Extração do DNA, amplificação (PCR) e sequenciamento

Pequenas porções da gleba foram retiradas da parte interna dos basidiomas maduros para realização do procedimento de extração total do DNA genômico. Para

isso, foram utilizadas três abordagens: DNeasy™ Plant Mini Kit (QIAGEN), Whatman FTA™ cards (GE Healthcare Life Sciences) e SpeedTools Tissue DNA extraction (Biotools, B & M Labs, S.A). Seguiu-se todos os protocolos dos fabricantes, com exceção do processo de incubação com Quiagen® e Biotools®, que foi realizado em banho-maria por 65° C por toda a noite (Figura 9A). Como resultado foram obtidos de 50 a 200 µl de DNA genômico de cada amostra, de acordo com o protocolo de extração utilizado.

A amplificações por PCR – Reação em Cadeia da Polimerase – foram realizadas com PuReTaq™ Ready-To-Go™ PCR Beads (GE Healthcare Life Sciences). Por já possuir todos os reagentes necessários para uma reação de PCR, utilizou-se apenas 23 µl do produto da extração de DNA e 1 µl de cada *primer* (direto e reverso). O procedimento foi realizado utilizando o termociclador Techne TC-512 com gradiente de temperatura de acordo com Martín & Winka (2000), obtendo 25 µl como produto final da reação (Figura 9B). Para as amplificações da região de ITS (ITS1–5.8S–ITS2) do rDNA foram utilizados os pares de *primers* direto e reverso, respectivamente: ITS1F e ITS4B (Gardes & Bruns, 1993) ou ITS5 e ITS4 (White *et al.*, 1990). Para as amplificações de LSU nu-rDNA foram utilizados os *primers* LR0R e LR5 (Vilgalys & Hester, 1990).

A comprovação dos resultados foi obtida por meio da técnica de eletroforese, através de um gel de Agarose a 1% contendo, em cada poço, 5 µl de amostra, 1 µl de tampão de corrida (sacarose e azul de bromofenol) e 2µl de corante fluorescente GelRed® (Biotium). Para corrida do gel foi utilizada a cuba de eletroforese Hoefer® Macro-View UV 20 Transilluminator, adicionada de solução de TBE 0,5%, a 100V, 300 mA por 30 minutos. O resultado foi visualizado e fotografado no transiluminador Cleaver View® com câmera acoplada (Figura 9C, D).

Os produtos de PCR obtidos foram purificados usando 8 µl de 1:10 ExoSAP-IT® (USB Corp.) ou através do QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN) seguindo as instruções dos fabricantes. O sequenciamento foi realizado na Macrogen Inc. em Seoul (Coréia do Sul) ou em sua sede em Madrid (Espanha).

Figura 9 – Equipamentos utilizados para as análises moleculares. A: Kit de extração de DNA Quiagen®. B: Termociclador. C: Cuba de eletroforese. D: Transiluminador.



Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2019).

Sequências consenso foram obtidas utilizando o programa Sequencher v.4.1.4 (Gene Codes Corporation Inc.). Em seguida estas foram comparadas com sequências homólogas disponíveis no banco de dados do GenBank (Cochrane *et al.*, 2011) utilizando o algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997). Todas as novas sequências obtidas têm sido depositadas no GenBank.

3.3.2 Análises filogenéticas

Primeiramente foram realizados os alinhamentos e as análises filogenéticas prévias utilizando as sequências ITS e LSU separadamente. Após verificado que os resultados eram congruentes, ou seja, que as árvores apresentaram topologias semelhantes, um novo alinhamento concatenado foi executado. Todos os alinhamentos foram realizados no programa Seaview (Gouy *et al.* 2010). No Alinhamento 1 concatenado foram incluídas todas as sequências com os marcadores ITS e/o LSU de espécimes de *Bovista* obtidas nesse trabalho, como também as sequências homólogas retiradas de GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/>), (Tabela 9), totalizando 128 sequências. No Alinhamento 2 concatenado foram priorizados os espécimes que possuíam ambas

as sequências ITS e LSU; contudo, incluiu-se nove sequências provenientes de espécies-tipo que possuíam somente a região ITS amplificada, totalizando 87 sequências.

As sequências homólogas foram selecionadas com base em publicações relacionadas a *Bovista* (Krüger *et al.*, 2001; Larsson & Jeppson, 2008; Bates *et al.*, 2009; Larsson *et al.*, 2009; Yousaf *et al.*, 2013; Jeppson *et al.*, 2016, Vizzini & Ercole, 2017). As sequências de *Lycoperdon perlatum* (DQ112630), *L. caudatum* (DQ112558), *L. norvegicum* (DQ112631), *L. subcretaceum* (JN572908) foram selecionadas como grupo externo (Larsson *et al.*, 2009) de ambos os alinhamentos. Adicionou-se, ainda, quatro sequências de ITS e LSU de *Bryoperdon acuminatum* (KY581199, KY581200–KY581202) para confirmar sua posição filogenética. Todos os alinhamentos foram otimizados visualmente, os *gaps* foram indicados como “-”.

Análises de Máxima Parcimônia (MP) foram conduzidas utilizando o programa PAUP 4.0a147 (Swofford, 2003), cujas árvores foram obtidas através do método de busca heurística, com a seleção do algoritmo *tree bisection-reconnection* (TBR) e da opção MULTrees. Todas as transformações foram consideradas desordenadas e com pesos iguais. As regiões variáveis com alinhamentos ambíguos foram excluídas e os *gaps* foram considerados como dados perdidos (*missing data*). As árvores foram obtidas por *stepwise addition* com 1.000 replicações e com adições de sequências aleatórias replicadas 100 vezes. O número máximo de árvores foi limitado a 100. A árvore obtida pelo consenso da maioria (*majority-rule consensus*) foi calculada. Os índices de retenção (RI), de consistência (CI), bem como os níveis de homoplasia foram obtidos. O método de *bootstrap* (MPBs) foi utilizado para se conhecer o suporte dos ramos após a obtenção das árvores mais parcimoniosas e da árvore de consenso.

As análises de ML foram realizadas utilizando o software RAxML (Stamatakis, 2014) presente na plataforma online CIPRES (Cyberinfrastructure for Phylogenetic Research–<http://www.phylo.org>). As árvores foram obtidas assumindo o modelo evolutivo “GTRGAMMA” para ambas as regiões (ITS e LSU) e utilizando uma análise rápida de *bootstrap* (MLBs), com o critério autoMRE selecionado, e aplicando a opção de 1000 replicações.

Para as Inferências Bayesianas (BI) foram selecionados modelos evolutivos utilizando MrModelTest 2.3 (Nylander, 2004). Foram estimados os melhores modelos de substituição para as regiões ITS (ITS1–5.8S–ITS2) e LSU de cada alinhamento.

Para ambos os alinhamentos foram obtidos os modelos evolutivos “HKY+Y+G” e “K80+I+G” para ITS e LSU, respectivamente.

As Inferências Bayesianas (BI) foram realizadas através do programa MrBayes 3.2.2 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001) indicando o modelo evolutivo para cada gene da matriz de dados. Duas corridas foram realizadas com 8 cadeias de Markov de Monte Carlo (MCMC) simultaneamente em cada, por 10 milhões de gerações. As árvores foram amostradas a cada 5.000 gerações, descartando-se 50% das árvores adquiridas inicialmente (*burn-in*) com o intuito de estimar a probabilidade posterior (PP). A árvore obtida pelo consenso da maioria (*majority-rule consensus*) foi calculada.

Todas as árvores obtidas nesse trabalho foram visualizadas e editadas no software FigTree v 1.3.1 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) e no Corel Draw X8, respectivamente. Uma combinação de MPBs, MLBs e PP foram utilizadas para avaliar a confiança de nós específicos (Lutzoni *et al.*, 2004; Wilson *et al.*, 2012). Os nomes dos subclados foram baseados em Larsson & Jeppson (2008), Larsson *et al.* (2009) e Jeppson *et al.* (2016).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 IDENTIFICAÇÃO E OBTENÇÃO DE SEQUÊNCIAS A PARTIR DE EXSICATAS

Foram analisadas morfologicamente 127 exsicatas, das 172 provenientes dos empréstimos dos herbários ICN, PACA, URM, UFRN-Fungos, BPI, M, MA-Fungi, MC, NY, XAL e WU; destas, 21 eram exemplares tipo. Algumas exsicatas pertencentes aos herbários MA-Fungi e MC, por problemas burocráticos dos órgãos brasileiros e por não haver tempo hábil, não puderam ser analisadas morfologicamente. No entanto, todas as exsicatas foram submetidas ao processo de extração e amplificação do DNA. Do total das 172 exsicatas, obteve-se sequências ITS e/ou LSU de 98 espécimes (16 tipos); identificadas como pertencentes a espécies de *Bovista* pelo algoritmo BLASTn. No total foram obtidas 85 sequências de ITS e 77 sequências de LSU. Para a identificação confiável das espécies, bem como para o entendimento das possíveis relações filogenéticas do grupo, foram selecionadas todas as amostras que possuíam obrigatoriamente a região ITS completa (ITS1–5.8S–ITS2), uma vez que este é considerado o *barcode* do Reino Fungi (Schoch *et al.*, 2012). Dessa forma, treze amostras foram descartadas da análise por possuir ou somente o marcador LSU ou por apresentar sequências duvidosas ou curtas, totalizando 85 sequências com um ou dois marcadores.

4.2. RESULTADOS DO ALINHAMENTO 1 CONCATENADO

A matriz de dados do Alinhamento 1 concatenado consistiu de um total de 128 amostras contendo um ou mais marcadores (ITS e/ou LSU), tendo sido 85 geradas nesse trabalho (Anexo 2). Destas, foram identificados previamente como *Bovista* (79 nesse trabalho), *Bovistella* (2 nesse trabalho), *Bryoperdon* ou *Lycoperdon* (2 nesse trabalho) 124 espécimes, e quatro espécies de *Lycoperdon*, retiradas do GenBank, foram utilizadas como grupo externo. Oitenta e sete (87) sequências apresentaram 1.631 caracteres, correspondendo a ambos os marcadores (ITS e LSU) e 41 sequências apresentaram somente o marcador ITS. Considerando os dois marcadores e sob o critério de parcimônia, obteve-se que 1.338 caracteres foram constantes, 99 foram variáveis e parcimonialmente não informativos, e 194 foram parcimonialmente informativos. A análise de MP do Alinhamento 1 resultou em 100 árvores (não mostradas) com os seguintes índices: tamanho= 775; CI= 0.4400; RI= 0.8281.

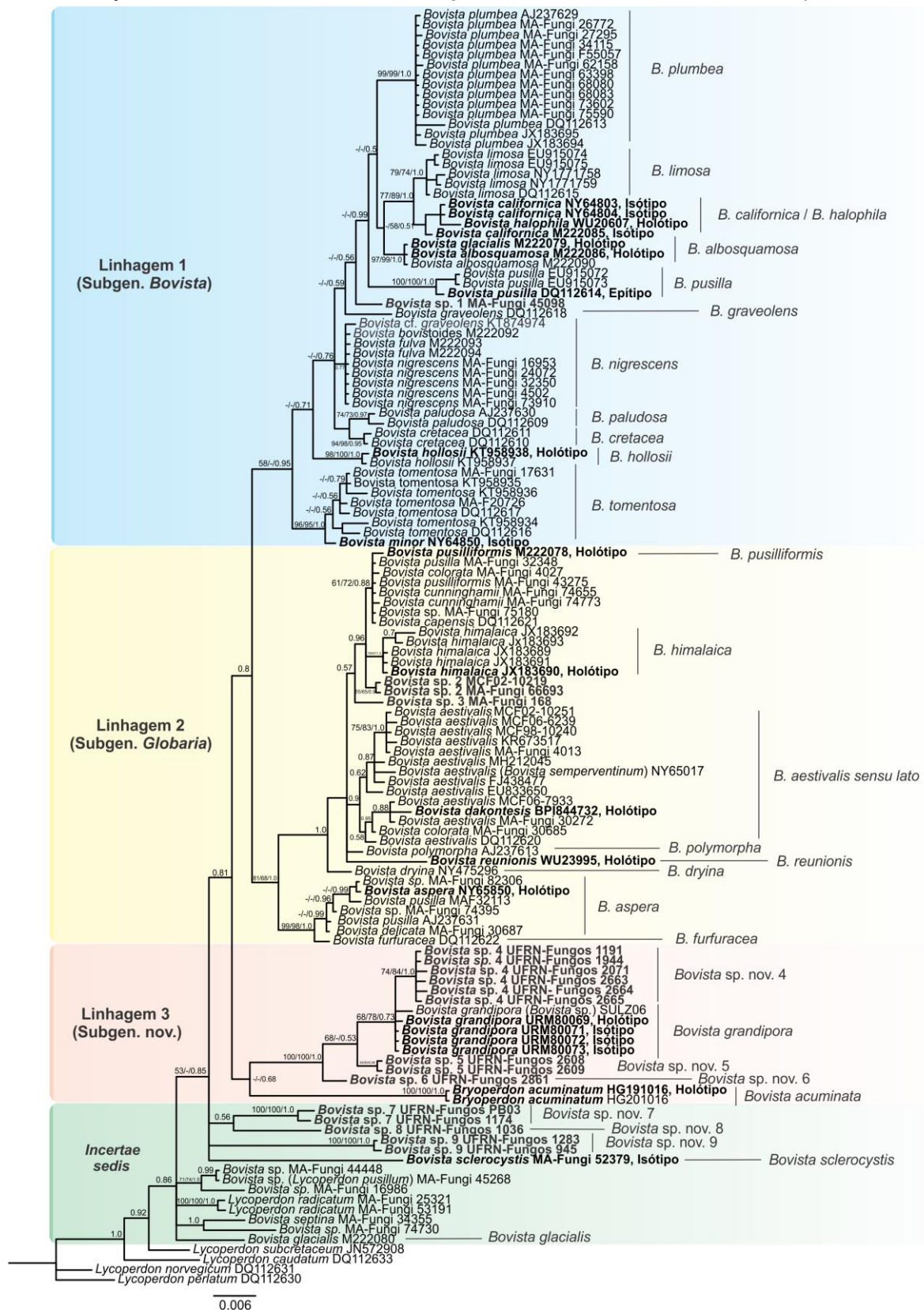
As análises de MP e ML (árvores não mostradas) demonstraram moderado suporte para os principais clados de *Lycoperdaceae*. O clado de *Bovista* apresentou suporte moderado (MLBs= 86%), confirmando-se como um grupo monofilético com três clados principais que apresentaram baixos a moderados suportes e outros grupos contendo 14 amostras que aparecem em posições mais basais do clado, não sabendo a real posição filogenética delas dentro do grupo. Dois desses grupos principais coincidiram em grande parte com os subgêneros *Bovista* (MPBs= 58%) e *Globalia* (MPBs= 81%; MLBs= 68%), sugerido primeiramente por Kreisel (1967), e confirmado molecularmente por Larsson & Jeppson (2008). O gênero *Bryoperdon*, no entanto, não foi confirmado como um grupo distinto de *Bovista* e sim como uma espécie dentro do gênero, obtendo-se alto suporte (MPBs= 100%; MLBs= 100%). Outras espécies identificadas previamente como *Lycoperdon radicum* também aparecem inseridas no clado de *Bovista* com alto valor de suporte (MPBs= 100%; MLBs= 100%), contrariando o resultado obtido por Larsson & Jeppson (2008).

A árvore de consenso da maioria (50% *majority-rule*), obtida através por Inferência Bayesiana, apresentou topologia semelhante a árvore de consenso estrito da análise de ML apresentando moderados valores de suporte para *Bovista* (0.86 PP). Os valores de PP podem ser visualizados acima dos ramos, juntamente com os valores de *bootstrap* das análises de MP e ML (Figura 10).

Como nas análises de MP e ML, as espécies de *Bovista* estudadas, estão distribuídas principalmente em três linhagens, nas quais duas correspondem em grande parte aos subgêneros *Bovista* (Linhagem 1) e *Globalia* (Linhagem 2). Dez sequências pertencentes ao herbário UFRN-Fungos identificadas como *Bovista*, quatro sequências-tipo de *B. grandipora* do herbário URM, e as sequências anteriormente identificadas como *Bryoperdon acuminatum*, formam uma linhagem a parte (PP= 0.68) dentro do gênero *Bovista* (Linhagem 3), que não corresponde com os subgêneros *Bovista* ou *Globalia*.

Outras espécies, como *Bovista sclerocystis*, *Bovista* sp. nov. 7, *Bovista* sp. nov. 8, *Bovista* sp. nov. 9, *B. septina* e *B. glacialis*, além de coleções sob o nome de *Bovista* sp., *Lycoperdon pusillum* e *L. radicum* não correspondem a nenhuma linhagem e estão distribuídas nos ramos mais basais.

Figura 10 – Inferência Bayesiana de *Bovista* (Alinhamento 1) usando espécies de *Lycoperdon* como grupo externo. Porcentagens de valores de bootstrap (MP e ML) e probabilidades posteriores acima dos ramos da esquerda para a direita, respectivamente. Cada ramo terminal, com o nome de acordo com a coleção GenBank ou Herbário. As Linhagens de *Bovista* estão indicadas à esquerda.



4.3 RESULTADOS DO ALINHAMENTO 2 CONCATENADO

A matriz de dados do Alinhamento 2 concatenado consistiu em um total de 87 espécimes que possuíam sequências de ITS e LSU, das quais 83 eram provenientes de espécimes identificados previamente como *Bovista*, *Bovistella*, *Bryoperdon*, além de quatro espécies de *Lycoperdon* que foram utilizadas como grupo externo. O alinhamento mostrou 1.631 posições que a análise de MP identificou como 1.366 caracteres constantes, 84 variáveis e parcimonialmente não informativos, e 181 parcimonialmente informativos. Foram obtidas as 100 árvores mais parcimoniosas com os seguintes índices: tamanho= 610; CI= 0.4902; RI= 0.8294.

A árvore de consenso da maioria (50% *majority-rule*) da Inferência Bayesiana apresentou topologia semelhante a árvore do Alinhamento 1 concatenado, mostrando moderado a alto valor de suporte para as três linhagens principais de *Bovista*, assim como para os clados de *Bovista* sp. nov. 8 e de *Bovista* sp. nov. 10 (PP = 0.99). Os valores de PP podem ser visualizados acima dos ramos, juntamente com os valores de *bootstrap* das análises de MP e ML (Figura 11). Nessa árvore, as sequências sob o nome *Lycoperdon radicum* formam um grupo-irmão com o clado de *Bovista*, tendo essa relação um alto valor de suporte (PP= 1.0). As espécies *B. delicata*, *B. graveolens*, *B. septina* e dois espécimes sob o nome de *Bovista* sp. (MA-Fungi 44448) e *Lycoperdon pusillum* (MA-Fungi 45268) aparecem em clados basais de *Bovista*.

As análises de MP e ML (árvores não mostradas) demonstraram moderado suporte para os principais clados de *Bovista*. As árvores apresentaram topologias semelhantes às árvores do Alinhamento 1 concatenado, todavia, as três linhagens principais apresentaram baixos a moderados valores de suporte. O gênero *Bryoperdon*, assim como nos resultados do Alinhamento 1 foi confirmado como uma espécie de *Bovista* (MPBs= 100%; MLBs= 100%).

De acordo com a Figura 11, as espécies pertencentes à Linhagem 1 estão distribuídas em oito clados com mais de duas sequências, e quatro ramos terminais. De cima para baixo na árvore, os clados correspondem a: *B. plumbea* (MPBs= 99%, MLBs= 99%, PP= 1.0), *B. limosa* (MPBs= 78%, MLBs= 77%, PP= 1.0), *B. californica* Kreisel/*B. halophila* (MLBs = 63%, PP= 0.86), *B. albosquamosa* Kreisel/*B. glacialis* Kreisel (MPBs = 98%, MLBs = 99%, PP= 1.0), *B. pusilla* (MPBs= 100%, MLBs=

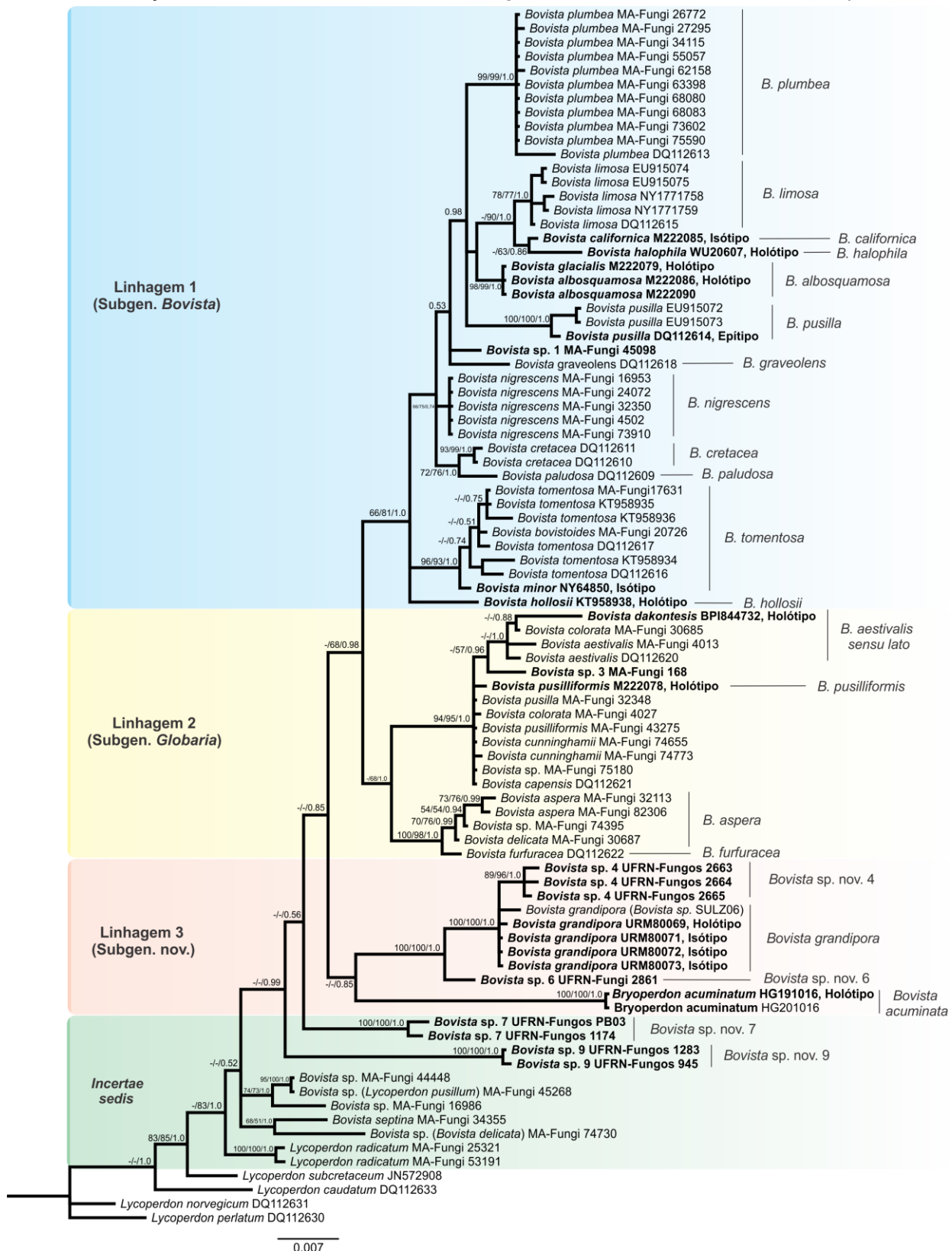
100%, PP= 1.0), *B. nigrescens* (MPBs= 66%, MLBs= 75%, PP= 0.74), *B. cretacea* T.C.E. Fr. (MPBs = 93%, MLBs = 99%, PP= 1.0) e *B. tomentosa* (Vittad.) De Toni/*B. minor* Morgan (MPBs = 96%, MLBs = 93%, PP= 1.0). Os ramos terminais correspondem a: *Bovista* sp. 1 MA-Fungi 45098, *B. graveolens* Schwalb DQ112618, *B. paludosa* Lév. DQ112609 e *B. hollosii* KT958938 (holótipo).

As espécies da Linhagem 2 estão distribuídas em dois clados principais. O clado superior (de cima para baixo na árvore) com alto valor de suporte (MPBs = 94%, MLBs = 95%, PP= 1.0) constituem sequências obtidas dos espécimes *B. aestivalis* (incluído o holótipo de *B. dakotensis*), *B. capensis*, *B. colorata*, *B. cunninghamii*, *B. pusilla*, *B. pusilliformis* (holótipo), e dois espécimes de *Bovista* sp., que se encontram em posições separadas. O clado inferior, também com alto valor de suporte (MPBs = 100%, MLBs = 98%, PP= 1.0), formam duas sequências de *B. aspera* Lév. e uma sequência de *B. delicata* (MA-Fungi 30687), *B. furfuracea* (DQ112622), e *Bovista* sp. (MA-Fungi 74395), respectivamente.

A Linhagem 3 possui espécies distribuídas em dois clados principais. No clado superior se agrupam quatro sequências de *B. grandipora* (MPBs= 68%, MLBs= 78%, PP= 0.73), com três de *Bovista* sp. 4 e uma de *Bovista* sp. 6. O clado inferior é composto por sequências de dois espécimes de *Bryoperdon acuminatum* (incluído o holótipo).

Outros espécimes não se incluíram em nenhuma das três linhagens: *Bovista* sp. 7 (UFRN-Fungos PB03; UFRN-Fungos 1174), *Bovista* sp. 9 (UFRN-Fungos 1283; UFRN-Fungos 945), *Bovista septima*, assim como quatro *Bovista* sp. e dois espécimes de *Lycoperdon radicum* do herbário MA-Fungi. Na Figura 11 também aparecem como *Incertae sedis*, *Bovista sclerocystis* (isótipo) e *B. glacialis*.

Figura 11 – Inferência Bayesiana de *Bovista* (Alinhamento 2) usando espécies de *Lycoperdon* como grupo externo. Porcentagens de valores de bootstrap (MP e ML) e probabilidades posteriores acima dos ramos da esquerda para a direita, respectivamente. Cada ramo terminal, com o nome de acordo com a coleção GenBank ou do Herbário. As Linhagens de *Bovista* estão indicadas à esquerda.



Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2019).

4.4 DISCUSSÃO DOS ALINHAMENTOS CONCATENADOS

Nas análises realizadas com os Alinhamento 1 e 2 foram identificadas 25 espécies de *Bovista*, das quais nove são novas para a ciência. Os resultados indicam que não foi possível concluir questões importantes sobre o posicionamento de determinadas espécies utilizando o Alinhamento 1. Como dito anteriormente, a ausência de um dos marcadores em determinadas sequências reduziu os índices de consistência e de retenção das análises provocando o surgimento de politomias. Sabe-se que a inclusão de mais marcadores auxilia na determinação de relações filogenéticas, contudo, não foi possível obter nesse trabalho (Puillandre *et al.*, 2012). A utilização de materiais-tipo proporcionou uma maior acurácia e confiança quanto a identificação das espécies. Schoch *et al.* (2014) relatam que para haja uma identificação confiável tanto morfológica quanto molecularmente são necessários os dados provenientes de espécies-tipo.

Como esperado, o Alinhamento 2 obteve árvores com maior robutez, ou seja, com maiores índices de consistência e de retenção, pois foram utilizadas somente sequências concatenadas (ITS e LSU). Dessa forma, a árvore da Figura 11 retrata de forma mais confiável, estatisticamente, a história evolutiva de *Bovista*, concordando em sua maior parte, com os resultados obtidos por Larsson & Jeppson (2008), Larsson *et al.* (2009) e Jeppson *et al.* (2016).

Como dito anteriormente, observou-se a definição dos subgêneros *Bovista* e *Globaria*, concordando com a proposta inicial de Kreisel (1967). Contudo, algumas considerações devem ser feitas acerca dos subgêneros para que represente melhor a filogenia do grupo. A presença de espécies-tipo posicionadas em subgêneros diferentes daqueles aos quais foram incluídas inicialmente revelou que os alguns caracteres morfológicos propostos por Kreisel (1967) não possuem valor taxonômico e, portanto, não podem refletir a filogenia desse gênero.

A principal característica que separa os dois subgêneros ainda é o tipo de capílio. Segundo Kreisel (1964, 1967), o capílio tipo-lycoperdon ou intermediário ocorreriam em espécies do subgênero *Globaria*, e capílio tipo-bovista em espécies do subgênero *Bovista*. Todavia, observou-se que há uma mesclagem de espécies com capílio tipo-intermediário entre os dois subgêneros. Há, ainda, uma terceira linhagem que apresenta somente capílio tipo-lycoperdon, mas não está inclusa no que seria considerado o subgênero *Globaria*.

O posicionamento de *B. limosa* demonstra que o conceito morfológico de

Lange (1987) estava correto, no qual excluiu a seção *Geastroma*, alocada no subgênero *Globaria*, e acomodou essa espécie no subgênero *Bovista*. Coleções de *B. pusilla* foram reexaminadas por Larsson *et al.* (2009) e foram incluídas no subgênero *Bovista*. Tradicionalmente, *B. albosquamosa*, *B. californica*, *B. halophila* e *B. glacialis* foram inseridas no subgênero *Globaria*, sendo as três primeiras incluídas na seção *Globaria*, série *Albosquamosae*, e a última na seção *Lagoperdon*, série *Pusillae*. Nos resultados obtidos nesse trabalho, essas espécies formam um clado com *B. limosa* dentro do subgênero *Bovista*, indicando que o capilício tipo-intermediário também pode ocorrer nesse subgênero.

Bovista californica e *B. halophila* formam um clado, do qual é possível inferir que, devido às duas espécies apresentarem diferenças morfológicas, devem ser consideradas espécies distintas. *Bovista californica* (subg. *Globaria*, sect. *Globaria*, ser. *Albosquamosa*) é caracterizada por capilício heteromórfico (tipo-lycoperdon e intermediário), exostrato pseudoparenquimatoso (interno) e filamentoso (externo) e basidióporos globosos, verrucosos, com pedicelo curto (Figura 12J–L). Morfologicamente essa espécie se assemelha a *B. albosquamosa*. Já *B. halophila* (subg. *Globaria*, sect. *Lagoperdon*, ser. *Pusillae*) possui capilício tipo-lycoperdon, exostrato filamentoso e basidióporos globosos, sublisos, com pedicelo curto (Figura 13G–I), e se assemelha morfológicamente com *B. limosa*. As semelhanças entre essas duas espécies e *B. albosquamosa* e *B. limosa* podem ser observadas também na árvore filogenética, sendo estas grupos-irmãos em um clado do subg. *Bovista*.

Em relação aos holótipos de *B. albosquamosa* e *B. glacialis*, constatou-se tratar da mesma espécie. As duas espécies, identificadas como novas espécies por Kreisel em 1964, pertencem à coleção de J. Poelt localizada atualmente no Herbário M. Após cuidadosa revisão morfológica das doze exsicatas correspondentes a essas espécies (dados na descrição de *B. albosquamosa*), confirmou-se que *B. glacialis* (M222079–holotype) e *B. albosquamosa* (M222086–holotype; M222090) pertencem à mesma espécie: *B. albosquamosa*. Contudo, as outras exsicatas sob o nome *B. glacialis* (M222080; M222081–imaturio; M222082; M222083; M222084) correspondem à descrição dada por Kreisel em 1967 para a espécie. Análises morfológicas confirmam o erro na identificação do holótipo de *B. glacialis*, e as análises moleculares não revelam se *B. glacialis* se trata realmente de uma espécie do gênero *Bovista* (M222080). Dessa forma, *B. albosquamosa* (subg. *Globaria*, sect. *Globaria*, ser. *Albosquamosa*) é caracterizada por capilício tipo-lycoperdon, exostrato

pseudoparenquimatoso (interna) e filamentosos (externa), basidiósporos subglobosos, verrucosos ($5,2\text{--}6,8 \times 4,8\text{--}6,6 \mu\text{m}$), com pedicelos longos (Figura 12D–F). Para as exsicatas sob o nome de *B. glacialis* foi eleito um novo tipo para a espécie, correspondendo com as características da espécie.

Segundo as definições de Kreisel (1967) para os subgêneros *Bovista* e *Globaria*, as espécies da Linhagem 3 pertenceriam originalmente ao subg. *Globaria*. Todavia, as análises moleculares, juntamente com os caracteres morfológicos como a estrutura do perídio, o tipo de capilício e os basidiósporos sugerem uma relação filogenética próxima dessas espécies ao subgênero *Bovista*, concordando com Lange (1987) e Larsson *et al.* (2009).

O clado composto *Bovista nigrescens*, *B. bovistoides*, *B. fulva* e *B. aff. graveolens*, corrobora que todas as espécies são sinônimas de *B. nigrescens* (Figura 10). Com exceção de *B. graveolens*, as outras duas espécies são proximamente relacionadas de *B. nigrescens*. Todas possuem capilício tipo-bovista, exostrato filamentosos com células infladas, basidiósporos globosos, verruculosos, com pedicelos longos (Figura 14A–C). As espécies analisadas nesse clado não permite confirmar que *B. nigrescens*, *B. bovistoides* e *B. fulva* correspondem a mesma espécie, pois para isso seria necessário analisar coleções-tipo dessas espécies. No entanto, para *B. aff. graveolens* (KT874974) foi possível confirmar molecularmente que essa espécie não corresponde ao seu nome. Apesar de sua sequência ter sido retirada do banco de dados GenBank e, portanto, não foi possível ter acesso à exsicata, foi presumível perceber morfológicamente que essa espécie não se trata de *B. graveolens*, uma vez que essa espécie tem uma característica peculiar, que é o basidiósporo com pedicelo em formato de “U”, não sendo encontrada em qualquer outra espécie do gênero.

Em relação ao clado constituído por *B. tomentosa* e *B. minor*, as espécies foram consideradas sinônimas de *B. tomentosa* (Figura 15A–C). Essa espécie foi descrita por Vittadini em 1843 como *Lycoperdon tomentosum*, sendo caracterizada por capilício tipo-bovista, exostrato filamentosos e pseudoparenquimatosos, basidiósporos elipsoides, com pedicelos curtos. *Bovista minor* foi descrita por Morgan em 1892 e possui características semelhantes à *B. tomentosa*. Baseado nesses caracteres, Kreisel propôs em 1967 uma série para agrupar as duas espécies: *Ovalisporae*, baseado principalmente no substrato ao qual essas espécies estavam localizadas. Segundo Bautista-Hernández *et al.* (2011), o caractere

ecológico não demonstrou ter valor taxonômico para separação das duas espécies. As análises moleculares realizadas por Jeppson *et al.* (2016) e as realizadas nesse trabalho comprovam essa afirmação, sendo *B. minor* mantida, portanto, como sinônimo de *B. tomentosa*.

A politomia existente entre *B. pusilliformis*, *B. cunninghamii* e *B. capensis* demonstrou não ser possível determinar as relações filogenéticas entre essas espécies, sendo necessário a adição de outros marcadores filogenéticos. Entretanto, essas análises indicaram que *Bovista pusilliformis* (Figura 14G–I), atualmente considerada um sinônimo de *B. aestivalis* (Demoulin, 1979), pode ser uma espécie diferente, como proposta inicialmente por Kreisel (1964).

Os diversos posicionamentos de *B. aestivalis* em diferentes clados podem indicar a existência de um complexo de espécies. Schoch *et al.* (2014) revela a importância da utilização de sequências derivadas de material tipo para fins de identificação, uma vez que associados a um nome único, as sequências se tornarão referências para a correta identificação das espécies. Nesse caso, não há como determinar corretamente a verdadeira identidade de *B. aestivalis* uma vez que o material tipo não foi encontrado. Contudo, baseado em exsicatas analisadas por Larsson & Jeppson (2008), *B. aestivalis sensu stricto* pode corresponder ao material identificado como DQ112620 (Figuras 10, 11).

Diversos estudos já evidenciaram a grande variabilidade morfológica de *B. aestivalis*, cujo capilício e a ornamentação dos basidiósporos eram os únicos caracteres que identificavam essa espécie (Calonge & Demoulin, 1975; Ortega & Buendia, 1989; Moyersoen & Demoulin, 1996; Jeppson, 2001). No entanto, as análises moleculares revelaram que algumas espécies anteriormente sinonimizadas em *B. aestivalis*, como *B. pusilliformis* e *B. polymorpha*, podem corresponder a duas espécies distintas, uma vez que aparecem em clados diferentes de *B. aestivalis sensu stricto*. Já *Bovista dakotensis* e *B. colorata* (MA-Fungi 30685) confirmaram-se como sinônimas de *B. aestivalis*. Em relação a outra espécie sob o nome de *Bovista colorata* (NY475296), localizada em um ramo mais basal, provavelmente corresponde a *B. dryina* (Morgan) Demoulin (Figura 12A–C).

Em outro clado foi possível observar que *Bovista aspera* e *Bovista furfuracea* Pers. estão proximamente relacionadas e apresentam caracteres similares, como capilício tipo-lycoperdon com poros frequentes e subgleba ausente ou inconspícua (Figura 12G–I). *Bovista furfuracea* foi reconhecida por Moyersoen & Demoulin (1996)

após reanálise de exsicatas sob o nome *B. pusilla* identificadas por Kreisel (1967). Atualmente *B. pusilla sensu* Kreisel (1967) é reconhecida por duas espécies: *Lycoperdon dermoxanthum* Vittad. e *B. furfuracea*. Contudo, análises morfológicas permitem a separação dessas duas espécies, pois *B. aspera* possui basidiósporos globosos, verruculosos, com pedicelos longos, enquanto *B. furfuracea* apresenta basidiósporos subglobosos, verrucosos, sem pedicelos.

A Linhagem 3 é composta por três espécies neotropicais e por *Bryoperdon acuminatum*, sendo este último considerado um novo gênero por Vizzini & Ercole (2017). No entanto, as análises moleculares desses autores consideraram somente quatro sequências de espécies de *Bovista*. Larsson *et al.* (2009) utilizaram 17 sequências de ITS e LSU de *Bovista* para compreender as relações filogenéticas de *B. limosa*. As análises moleculares desse trabalho, utilizando sequências com um ou dois marcadores, revelaram que *Bryoperdon* não é um gênero distinto de *Bovista* devendo esse gênero ser, portanto, sinonimizado. Morfologicamente, *Bryoperdon acuminatum* tem uma relação próxima com *B. ochrotricha* Kreisel e ambas foram incluídas por Kreisel (1967) no subgênero *Globaria*, seção *Xyloperdon* em virtude principalmente de seu substrato.

Ainda na Linhagem 3 observou-se a presença de três espécies novas: *Bovista* sp. 4 (UFRN-Fungos 1191; UFRN-Fungos 1944; UFRN-Fungos 2071; UFRN-Fungos 2663; UFRN-Fungos 2664; UFRN-Fungos 2665), *Bovista* sp. 5 (UFRN-Fungos 2608, UFRN-Fungos 2609) e *Bovista* sp. 6 (UFRN-Fungos 2861). *Bovista* sp. 4 apresenta capilício tipo-lycoperdon, com poros frequentes, exostrato pseudoparequimatoso (interno) e esferocistos em cadeia (externo), e basidiósporos globosos verrucosos, com pedicelo curto. Possui relação próxima com *B. grandipora*, entretanto, essa última apresenta poros largos (até 2 μ m) no capilício e basidiósporos punctados a verruculosos (Figura 13D–F). *Bovista* sp. 5 é caracterizada por capilício do tipo-bovista, com poros somente nas terminações e basidiósporos sublisos (Figura 15G–I). *Bovista* sp. 6 apresenta capilício tipo-lycoperdon, elástico, com poros, exostrato pseudoparenquimatoso, com células infladas (interno) e esferocistos em cadeia (externo), basidiósporos verrucosos, com pedicelos curtos (Figura 15J–L). Nesse trabalho a Linhagem 3 foi considerada como um subgênero novo dentro de *Bovista*, diferenciado-o dos subgêneros *Bovista* e *Globaria*.

Os ramos mais basais do gênero *Bovista* são compostos por *Bovista* sp. 7 (UFRN-Fungos PB03; UFRN-Fungos 1174), *Bovista* sp. 8 (UFRN-Fungos 1036), *Bovista* cf. *dryina* (UFRN-Fungos 1285; UFRN-Fungos 945) e *B. sclerocystis* (MA-Fungi 52379—isótipo), sendo a maioria relatada para a região neotropical. O clado composto por *Bovista* sp. 7 e *Bovista* sp. 8 apresenta baixo valor de suporte no Alinhamento 1 (PP= 0.56) e possuem espécies que diferem principalmente no exostrato (externo): filamentosos na primeira espécie e com esferocistos em cadeia na segunda (Figura 15M–P). Os outros clados mais basais foram considerados com posição incerta (*incertae sedis*), ou seja, não foi possível determinar sua posição filogenética dentro do grupo, reiterando a necessidade da inclusão de mais marcadores, assim como a utilização de materiais-tipo com o intuito de revelar a real diversidade entre suas espécies.

Com os resultados obtidos, o tratamento taxonômico dado às espécies nesse trabalho incluiu aquelas pertencentes às Linhagens 1, 2, 3 e de *Incertae sedis* (Figura 10, 11), bem como para espécies que não foram obtidas sequências, mas que foram analisadas morfológicamente. Como indicado na metodologia desse trabalho, os espécimes dos herbários MA-Fungi e MC não puderam ser revisados.

4.5 CARACTERES MORFOLÓGICOS COM VALOR TAXONÔMICO

A partir da análise integrativa desse trabalho foi possível verificar que as características utilizadas por Kreisel (1967) tem se mostrado relevantes para a identificação morfológica das espécies. Embora o resultado obtido não possa conferir de forma absoluta a posição filogenética de alguns grupos, observou-se que o tipo de capilício e os basidiósporos são os critérios importantes para identificar espécies de *Bovista*. No entanto, esse trabalho não foi capaz de revelar caracteres que possam separar todas as espécies do gênero, uma vez que não estão representadas na árvore filogenética. Contudo, diferentemente do que sugeriu Kreisel (1967), somente o tipo de capilício parece não ser capaz de separar os subgêneros dentro de *Bovista*. O resultado obtido mostrou que o capilício tipo-intermediário está presente nas Linhagens 1 e 2 do gênero *Bovista*. Além disso, a Linhagem 3 contém espécies com capilício tipo-lycoperdon, contrariando novamente a ideia de que o capilício é importante para separar os subgêneros. Entretanto, o tipo de capilício e a composição do exostrato são capazes de diferenciar as Linhagens: 1) na Linhagem 1 há ocorrência de espécies com capilício tipo-bovista ou

tipo-intermediário e o exoestrato é hifálico e pseudoparenquimatoso; 2) na Linhagem 2 ocorre o capilício tipo-lycoperdon ou tipo-intermediário e exoestrato hifálico e pseudoparenquimatoso ou somente pseudoparenquimatoso; 3) na Linhagem 3 há somente o capilício tipo-lycoperdon e o exoestrato somente pseudoparenquimatoso.

As hifas do endoperídio e a presença ou ausência de paracapilício também não demonstraram relevância taxonômica para identificação das espécies pois não apresentam diferenças entre as espécies analisadas. Não existe uma definição em relação aos basidiósporos, que podem ser sublisos a levemente equinulados, com pedicelos longos ou curtos. Todavia, há uma tendência de que basidiósporos com pedicelos longos (até 20 μm) sejam encontrados na Linhagem 1 e basidiósporos com pedicelos curtos estejam distribuídos nas Linhagens 2 e 3. A presença ou ausência de septos não se configura como importante para a separação de espécies, embora revele o tipo de elasticidade do capilício (quebradiço, subelástico ou elástico). A ocorrência de poros no capilício, até o presente momento, não demonstrou relevância na separação das espécies analisadas, mas observa-se que algumas espécies ou apresentam em maior abundância que outras ou não possuem poros.

Em relação aos caracteres morfológicos macroscópicos, a abertura do endoperídio e o tipo de ostíolo revelou ser importante para separar espécies que apresentam peristômio, como *B. limosa* e *B. pusilla*. A presença ou ausência de subgleba compacta indica ser uma característica importante para determinação em nível específico, porém é necessário destacar que deve ser observado somente em basidiomas desenvolvidos, ou seja, que já apresentem o ostíolo.

4.6 LISTA DE ESPÉCIES DE *BOVISTA* RECONHECIDAS NESSE TRABALHO

A taxonomia integrativa, ou seja, aquela que envolve estudos morfológicos e moleculares proporcionou a confirmação da identidade de 34 espécies pertencentes ao gênero *Bovista*, das quais seis espécies foram identificadas como novas para a ciência; outras três foram identificadas somente com caracteres morfológicos. Doze espécies pertencem ao subgênero *Bovista*, oito pertencem ao subgênero *Globaria*, cinco pertencem ao novo subgênero e dez possuem posição incerta dentro do grupo. Segue abaixo a lista das espécies reconhecidas nesse trabalho; aquelas indicadas com asterisco (*) foram incluídas no tratamento taxonômico.

4.6.1 Gênero *Bovista*

4.6.1.1 Subgênero *Bovista*

*Bovista albosquamosa**
*Bovista californica**
Bovista cretacea
Bovista graveolens
*Bovista halophila**
*Bovista hollosii**
*Bovista limosa**
*Bovista nigrescens**
Bovista paludosa
Bovista plumbea
Bovista pusilla
Bovista tomentosa

4.6.1.2 Subgênero *Globaria*

*Bovista aestivalis**
*Bovista aspera**
*Bovista dryina**
Bovista furfuracea
Bovista himalaica
Bovista polymorpha
*Bovista pusilliformis**
*Bovista reunionis**
Bovista sp. 1 (*S. semperventinum*?) *

4.6.1.3 Subgênero nov.

*Bovista acuminata**
*Bovista grandipora**
Bovista sp. nov. 4*
Bovista sp. nov. 5*
Bovista sp. nov. 6*

4.6.2 *Incertae sedis*

Bovista sp. nov. 7*
Bovista sp. nov. 8*
Bovista sp. nov. 9*
Bovista sp. nov. 10*
Bovista sp. nov. 11*
Bovista sp. nov. 12*
*Bovista glacialis**
*Bovista sclerocystis**
*Bovista septina**
Lycoperdon radicum

4.7 TRATAMENTO TAXONÔMICO DAS ESPÉCIES DE *BOVISTA* OBTIDAS

4.7.1 *Bovista aestivalis* (Bonord.) Demoulin, Beihefte zur Sydowia 8: 143 (1979)

Figuras 12A–C, 17A

≡*Lycoperdon aestivale* Bonord., Handbuch der allgemeinen Mykologie: 251 (1851)
 =*Lycoperdon dakotensis* Brenckle, Fungi Dakot.: no. 94 (1910)!

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subgloboso, 31 mm diam. × 18 mm alt., rizomorfias não visualizadas. **Exoperídio** não persistente, verruculoso, tornando-se escamoso, branco alaranjado (KW 5A3). **Endoperídio** papiráceo, marrom amarelado (KW 5D8), liso. **Gleba** cotonosa ou pulverulenta, marrom escuro (KW 6F8). **Subgleba** reduzida, 1–1,5 mm, marrom acinzentado (KW 6D3), compacta.

Exoperídio composto por duas camadas, a mais interna pseudoparequimatosa, 17,1–30,2 × 13,2–9,8 µm, parede ≤ 1,0 µm, hialinas em KOH, a mais externa composta por hifas quebradiças, 3,4–5,1 µm, parede < 1 µm, hialinas em KOH. **Endoperídio** filamentoso, 3,1–3,9 µm diam., parede ≤ 1 µm, elástico, septos falsos frequentes, hialino a amarelado em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon em toda a gleba, 3–4,8 µm diam., parede ≤ 1 µm, quebradiço, subelástico a elástico, ramificações subseptais raras, septos verdadeiros raros, septos falsos ausentes, poros frequentes, amarronzado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** globosos, 3,6–4,6 × 3,6–4,8 µm [$Q_m = 1,02$; $x = 3,9 \pm 0,3$; $x = 4,0 \pm 0,2$; $n=30$], verruculosos, pedicelos curtos 0,6–1,2 µm, retos.

Substrato: Baixo prado (solo com gramínea).

Material examinado: ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, North Dakota, La Moure Co., Kulm., col. J.F. Brenckle n. 94, X/1908 (BPI 844732, holótipo).

Sequências adicionais obtidas: MACEDÔNIA, MCF98-10240, MCF02-10251, MCF06-6239, MCF06-7933. ESPANHA, MA-Fungi 4013, MA-Fungi 30272, MA-Fungi 30272 (como *B. colorata*).

Comentários: Kreisel (1967) define *B. dakontesis* contendo subgleba compacta, capilício tipo-lycoperdon com poros frequentes e exoestrato com hifas quebradiças. Calonge & Demoulin (1975) discutem acerca de um grupo de espécies espanholas com subgleba compacta, concluindo que *B. dakontesis* se trata de uma espécie sinônima de *Lycoperdon aestivale* Bonord., posteriormente combinada por Demoulin (1979) em *Bovista aestivalis* (Bonord.) Demoulin. Ortega & Buendía confirmam essa espécie como sinônima de *B. aestivalis*, afirmando que os únicos caracteres taxonômicos válidos para distinguir tais espécies são: o capilício e a ornamentação

dos basidiósporos. O capilício de *B. aestivalis* é heteromórfico, com tipo-intermediário ocorrendo no centro da gleba, o que não é visto em *B. dakotensis*, que apresenta capilício tipo-lycoperdon por toda a gleba. Sabe-se que essa espécie é bastante polimórfica e pode ocorrer em diversos habitats (Jeppson, 2001; Larsson & Jeppson, 2008). Não foi possível obter a localização do material-tipo de *B. aestivalis*, logo, não há sequência desse material para confirmar a sinonímia das espécies. Contudo, as análises moleculares desse trabalho indicam que *B. dakotensis* pode ser sinônima de *B. aestivalis*, confirmando, assim, a proposta de Demoulin (1979). Dessa forma, *B. dakotensis* será mantida como sinônima de *B. aestivalis*.

4.7.2 *Bovista albosquamosa* Kreisel, Feddes Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis 69: 204 (1964)

Figuras 12C–F, 17B

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subgloboso a subpiriforme, 9–23 mm diam. × 9–13 mm alt., rizomorfas não visualizadas. **Exoperídio** não persistente, escamoso, branco amarelado (KW 3A1–3A2). **Endoperídio** papiráceo a coriáceo, castanho (KW 5E4), liso. **Gleba** pulverulenta, marrom amarelado a marrom fuligem (KW 5F4–5F5). **Subgleba** ausente ou reduzida, 0,1 mm alt., marrom avermelhado (KW 8E3), compacta.

Exoperídio composto por duas camadas, a mais interna pseudoparenquimatosa, com células globosas a subglobosas, piriformes a claviformes e setiformes, 10,1–33,5 × 8–22 µm, parede < 1,5 µm, hialinas em KOH, e a mais externa composta por hifas quebradiças, tortuosas e irregulares, 2,2–3,3 µm, parede < 1 µm, hialinas em KOH. **Endoperídio** filamentoso, 2,6–4,5 µm diam., parede ≤ 1 µm, elástico, septos falsos, amarelado a hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon em toda a gleba, 2,7–4,9(–5,4) µm diam., parede < 1,5 µm, subelástico a quebradiço, ramificações subseptais frequentes e anfi-septais raras, septos verdadeiros frequentes, septos falsos raros, poros ausentes, amorronzado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** subglobosos, 5,2–6,8 × 4,8–6,6 µm [$Q_m = 1,05$; $x = 5,9 \pm 0,4$; $x = 5,6 \pm 0,4$; $n=30$], verrucosos, com pedicelos longos 3,4–9,7 µm, retos.

Substrato: Solo arenoso.

Material examinado: NEPAL, Himalaia, Muhalangur Himal, Khumbu, Gorak Shep, 5.150 m, col. J. Poelt., G20, IX/1962 (M222086, holótipo); *Idem*, 5.150–5.200 m, G21b, IX/1962 (M222091); Himalaia, Muhalangur Himal, Khumbu, Niedriger Rasen

bei, 5.400 m, col. J. Poelt., G6, 29/IX/1962 (M222087); Himalaia, Muhalangur Himal, Khumbu, Bibre, 4.500–4.600 m, col. J. Poelt., G9, 29/IX/1962 (M222088); Himalaia, Muhalangur Himal, Khumbu, Lobuche, 4.960 m, col. J. Poelt., G14, IX/1962 (M222089); Himalaia, Muhalangur Himal, Khumbu, Pheriche, 4.250 m, col. J. Poelt., G10, IX/1962 (M222090); Himalaia, Muhalangur Himal, Khumbu, Bibre, 5.150 m, col. J. Poelt., G5, 29/IX/1962 (M222079; *Bovista glacilis*, holótipo).

Comentários: Segundo Kreisel (1964), essa espécie possui exoperídio escamoso, formado por hifas quebradiças e irregulares, capilício heteromórfico (tipo-lycoperdon e tipo-intermediário), basidiósporos globosos, verrucosos e pedicelados ($< 15 \mu\text{m}$) e subgleba ausente. Contudo, em todas as exsicatas analisadas, incluída a designada como espécie-tipo, observou-se a presença de uma subgleba compacta reduzida. Além disso, algumas exsicatas apresentaram somente capilício do tipo-lycoperdon (M222086, M222088, M222090 e M222091) e outras capilício heteromórfico (M222087 e M222089). Nesse caso, acredita-se que esse fato esteja relacionado ao amadurecimento das espécies, pois a única diferença entre elas é o desenvolvimento do capilício. Embora as análises moleculares não possam confirmar essa afirmação, optou-se por manter todas essas exsicatas sob o nome de *B. albosquamosa* até que novas sequências dessa espécie sejam introduzidas à análise.

Bovista glacilis apresenta os mesmos caracteres morfológicos que *B. albosquamosa*. As análises filogenéticas revelaram que o holótipo de *B. glacilis* se agrupou com espécimes de *B. albosquamosa*. Portanto, com base em caracteres morfológicos e moleculares, considera-se nesse trabalho *B. glacilis* sinônima de *B. albosquamosa*.

Bovista aspera compartilha com *B. albosquamosa* uma subgleba reduzida e basidiósporos verrucosos e pedicelados ($\leq 15 \mu\text{m}$), porém, esta apresenta capilício heteromórfico sem poros e aquela possui capilício tipo-lycoperdon com poros frequentes e exoestrato formado por pseudoparênquima. *Bovista heterocapilla* apresenta basidiomas pequenos (11-13 mm), capilício heteromórfico sem poros e basidiósporos verrucosos com pedicelos ($< 14 \mu\text{m}$) assim como *B. albosquamosa*, mas diferem quanto à composição do exoestrato.

4.7.3 *Bovista aspera* Lév., Annales des Sciences Naturelles Botanique 5: 162 (1846)

Figuras 12G–I, 17C

≡*Lycoperdon asperum* (Lév.) Speg., Anales de la Sociedad Científica Argentina 12 (6): 253 (1881)

≡*Bovistella aspera* (Lév.) Lloyd, The Lycoperdaceae of Australia (7): 28 (1905)

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subpiriforme, 21 mm diam. × 23 mm alt., rizomorfias não visualizadas. **Exoperídio** não persistente, escamoso, laranja amarronzado (KW 6C5). **Endoperídio** papiráceo, marrom amarelado (KW 6D6), liso. **Gleba** cotonosa, marrom escuro (KW 6F6). **Subgleba** reduzida, 0,4 mm, marrom acinzentado (KW 6D3), compacta.

Exoperídio composto por duas camadas, a mais interna pseudoparequimatosa, com células subglobosas a irregulares, 7,5–10,7 × 10–17,2 µm, parede ≤ 1,0 µm, hialinas em KOH, com presença de micoesclereídeos, a mais externa composta por hifas quebradiças, 3,4–4,5 µm, parede < 1 µm, hialinas em KOH. **Endoperídio** filamentoso, 3,1–3,9 µm diam., parede ≤ 1 µm, elástico, hialino a amarelado em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon em toda a gleba, 3,3–5,5 µm diam., parede ≤ 1 µm, subelástico a elástico, ramificações subseptais raras, septos verdadeiros e falsos ausentes, poros frequentes, amarronzado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** globosos, 4,7–5,1 × 4,4–5,0 µm [$Q_m = 1,02$; $x = 3,9 \pm 0,3$; $x = 4,0 \pm 0,2$; $n=30$], levemente equinulado, pedicelos longos 5–10,2 µm, retos.

Substrato: Não informado.

Material examinado: CHILE, Lars Lago, col. Gay, sem data (NY0065850, isolecótipo).

Sequências adicionais obtidas: ESPANHA, MA-Fungi 30687 (como *B. delicata*), MA-Fungi 32113 (como *B. pusilla*), MA-Fungi 74395 (como *Bovista* sp.), MA-Fungi 82306 (como *Bovista* sp.), MA-Fungi 30272 (como *B. colorata*).

Comentários: Segundo Kreisel (1967), *Bovista aspera* está inserida no subg. *Globaria*, ser. *Asperae* por apresentar capilício tipo-lycoperdon com pequenos poros frequentes e subgleba compacta. Esse tipo de subgleba pode ser visualizada em *B. aestivalis*, entretanto esta possui capilício tipo-intermediário no centro da gleba e exoestrato pseudoparenquimatoso. *Bovista plumbea* apresenta exoperídio escamoso e basidiosporos pedicelados, o mesmo encontrado nessa espécie, contudo, o tipo de capilício (tipo-bovista) e a ausência de subgleba diferem-nas. *Bovista aspera* é semelhante a *B. halophila* pelo exoperídio escamoso e pelo capilício tipo-lycoperdon com poros frequentes. Todavia, a presença de subgleba, os

basidiósporos pedicelados e o exoestrato composto por elementos hifálicos e pseudoparenquimatosos permite separar essas espécies.

4.7.4 *Bovista californica* Kreisel, Beihefte zur Nova Hedwigia 25: 224 (1967)

Figuras 12J–L, 17D

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subgloboso, 8–13 mm diam. × 3–9 mm alt., rizomorfias não visualizadas. **Exoperídio** não persistente, escamoso, branco amarelado (KW 3A2–4A2). **Endoperídio** papiráceo, marrom amarelado a marrom fuligem (KW 5E5–5F5), liso, com ostíolo fimbriado. **Gleba** cotonosa ou pulverulenta, concolor ao endoperídio (KW 5E5–5F5). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por duas camadas, a mais interna pseudoparenquimatosa, com células globosas a subglobosas e irregulares, 11,6–45,8 × 10,9–35,7 µm, parede < 2 µm, hialinas em KOH, e a mais externa composta por hifas quebradiças, tortuosas e irregulares, 2,2–4,8 µm, parede < 1 µm, hialinas em KOH. **Endoperídio** filamentoso, 2,5–4,6 µm diam., parede ≤ 1 µm, septos falsos raros, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon próximo ao ostíolo e na periferia, 2,1–4,2(–5,4) µm diam., parede < 1 µm, elástico, com terminações acuminadas, septos verdadeiros raros, septos falsos frequentes, poros ausentes, amorronzado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão, tipo-intermediário no centro da gleba, 4,8–10,1 µm diam., parede ≤ 1,5 µm, subelástico, com terminações acuminadas, ramificações subseptais e anfi-septais, septos verdadeiros ausentes, septos falsos frequentes, poros ausentes, amorronzado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** globosos, 4,6–5,8 × 4,5–5,7 µm [$Q_m = 1,02$; $x = 5,2 \pm 0,3$; $x = 5,1 \pm 0,3$; $n=30$], verrucosos, pedicelos curtos 1,4–3,3 µm, retos.

Substrato: Em solo com gramíneas.

Material examinado: ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, California, Lassen National Park, Shore of Hat Lake, north slope of Mount Lasse, col. Bonar, Lee, 12/VII/1934, (NY00064802, NY00064803, NY00064804, M222085, isótipos).

Comentários: *Bovista californica*, inserida no subg. *Globaria*, ser. *Albosquamosae* (Kreisel, 1967), apresenta basidiomas pequenos (< 20 mm), exoperídio escamoso, capilício heteromórfico e basidiósporos verrucosos pedicelados (< 4 µm). É semelhante a *B. halophila*, mas esta apresenta capilício tipo-lycoperdon com poros frequentes, basidiósporos menores (até 4,5 µm) e verruculosos (Kreisel &

Hausknecht, 2002). Nas figuras 10 e 11, ambas espécies se agrupam em um clado. Assim como *Bovista limosa*, *B. californica* também apresentou um peristômio fimbriado (NY64803, isótipo), capilício heteromórfico e exoestrato pseudoparenquimatoso e hifálico (Lange, 1987). Entretanto, *B. californica* não possui o peristômio delimitado, tampouco pedicelos longos em seus basidiósporos.

4.7.5 *Bovista dryina* (Morgan) Demoulin, Beihefte zur Sydowia 8: 144 (1979)

Figuras 12M–O, 17E

≡ *Lycoperdon dryinum* Morgan (1895)

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subgloboso, 13 mm diam. × 12 mm alt., rizomorfias não visualizadas. **Exoperídio** não persistente, verrucoso, marrom escuro (KW 7F3). **Endoperídio** papiráceo, marrom (KW 6E5), liso. **Gleba** pulverulenta, marrom escuro (KW 6F5). **Subgleba** pouco desenvolvida, 1 mm alt., marrom amarelado (KW 5E4), compacta.

Exoperídio composto por duas camadas pseudoparenquimatosas, a mais interna, com células subglobosas a alongadas, e piriformes, 13,9–23,5(–33,8) × 9,5–21,6 µm, parede < 1,0 µm, hialinas a amareladas em KOH, e a mais externa composta por esferocistos em cadeia, globosos a subglobosos, piriformes a clavados, 13,6–24,1 × 10,6–19,3 µm, parede < 1,5 µm, castanhas em KOH. **Endoperídio** filamentoso, 2,5–3,6 µm diam., parede < 1 µm, elástico, septos falsos presentes, amarrozado em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon em toda a gleba, 2,6–5,4 µm diam., parede tortuosa ≤ 1,5 µm, subelástico a elástico, ramificações subseptais presentes, septos verdadeiros raros, septos falsos ausentes, poros presentes, amorrizado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** globosos, 3,8–4,4 × 3,8–4,5 µm [$Q_m = 1,03$; $x = 4,1 \pm 0,2$; $x = 4,2 \pm 0,2$; $n=30$], verruculosos, pedicelos ausentes.

Substrato: Solo ou madeira em decomposição.

Material examinado: ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, Vermont, Lamoille Co., Stowe, Loomis Hill road, col. H.E. & M.E. Bigelow, 12/IX/1964 (NY00475295, NY00475296, NY0065588). BRASIL, Rio Grande do Sul, Santa Maria, Morro do Elefante, col. Cortez, V.G., 23/VI/2006 (UFRN-Fungos 863).

Comentários: *Bovista dryina* possui exoperídio verrucoso, subgleba compacta reduzida, capilício tipo-lycoperdon e basidiósporos pequenos (até 3,5 µm), sublisos. Segundo Demoulin (1979), o conceito de *Bovista colorata* em Kreisel (1967) foi

baseada na descrição de Coker & Couch (1928) e esta corresponde a outra espécie do gênero: *Bovista dryina* (Morgan) Demoulin. Para Bowerman (1961), *Bovista colorata* apresenta capilício do tipo-lycoperdon, basidiósporos verruculosos e apedicelados, e subgleba compacta; caracteres presentes em *B. dryina*. De acordo Grgurinovic (1997), *Bovista pulyuggeodes* Grgurinovic é morfologicamente similar a *B. dryina*, contudo, apresenta basidiomas depresso-globulosos e basidiósporos com longos pedicelos (até 13 μm). O capilício tipo-lycoperdon e os pequenos basidiósporos também são visualizados em *B. ochrotrica* Kreisel, porém, os mesmos são verrucosos, diferentemente do que é visto em *B. dryina*. O exoperídio verrucoso, subgleba compacta e exostrato pseudoparenquimatoso são caracteres compartilhados entre *B. dryina* (Morgan) Demoulin e *B. africana* Kreisel. No entanto, *B. africana* apresenta capilício mais robusto (até 10 μm) e basidiósporos com pedicelos longos (até 16 μm). O capilício tipo-intermediário com poros e os basidiósporos globosos a levemente ovóides em *B. aestivalis* (Bonord.) Demoulin são as principais diferenças entre essas espécies.

4.7.6 *Bovista glacialis* Kreisel, Feddes Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis 69: 205 (1964)

Figuras 13A–C, 17F

Lectótipo (aqui designado): NEPAL, Himalaia, Muhalangur Himal, Khumbu, Moränen des Lobuche, Gletschers bei Lobuche, 1.500 m, col. J. Poelt., G15, IX/1962 (M222080).

Basidioma imaturo subgloboso, 11 diam. – 9 mm alt., branco amarelado a castanho (KW 4A2), com exoperídio espinhoso, branco (KW 1A1), e gleba amarelada (KW 4A3). **Basidioma expandido** subgloboso, 11–25 mm diam. $\times$ 12–23 mm alt., rizomorfias não visualizadas. **Exoperídio** não persistente, espinhoso, tornando-se verrucoso na maturidade, marrom a marrom acinzentado (KW 6F3–6F4). **Endoperídio** papiráceo, marrom amarelado (KW 5E5), areolado. **Gleba** cotonosa ou pulverulenta, marrom fuligem (KW 5E7–5F5). **Subgleba** reduzida, 1–5 mm alt., marrom amarelado a marrom acinzentado (KW 5D3–5E5), compacta.

Exoperídio composto por duas camadas, a mais interna pseudoparenquimatosa, com células subglobosas a alongadas, 17,6–37,9 $\times$ 11,7–38,5 μm , parede < 1,5 μm , hialinas em KOH, e a mais externa composta por esferocistos em cadeia, com células globosas, subglobosas, alongadas a piriformes, 9,9–24,6 $\times$ 7,3–16,2 μm , parede $\leq$ 1,5 μm , hialinas em KOH. **Endoperídio**

filamentoso, 2,1–3,6 μm diam., parede < 1 μm , septos falsos frequentes, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon em toda a gleba, 2,7–4,9(–5,3) μm diam., parede < 1,5 μm , elástico a subelástico, ramificações subseptais raras, septos verdadeiros e septos falsos raros, presença de poros, amorrizado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** globosos, 4,8–6,5 $\times$ 4,6–6,4 μm [$Q_m = 1,02$; $x = 5,5 \pm 0,5$; $x = 5,4 \pm 0,5$; $n=30$], equinulados, com pedicelos curtos 1–3,5 μm , retos.

Substrato: solo arenoso.

Material examinado: NEPAL, Himalaia, Muhalangur Himal, Khumbu, Moränen des Khumbu – Gletschers bei Lobuche, $\pm$ 4.950–5000 m, col. J. Poelt., J., G16, 23/IX/1962 (M222081, parátipo); Idem, G17, IX/1962 (M222082, parátipo); Himalaia, Muhalangur Himal, Khumbu, Gorak Shep, col. J. Poelt., G18, IX/1962 (M222083, parátipo); Himalaia, Muhalangur Himal, Khumbu, $\pm$ 4.300m, durrer Rascu, col. J. Poelt., G11b, IX/1962 (M222084, parátipo).

Comentários: Diferentemente do holótipo de *B. glacialis* (M222079) que corresponde a *B. albosquamosa*, as outras cinco exsiccatas estudadas de *B. glacialis* possuem as características descritas por Kreisel (1964, 1967): subgleba compacta, exoperídio composto por espinhos e por esferocistos em cadeia, além da presença de capilício tipo-lycoperdon e basidiósporos fortemente verrucosos. Dado que o holótipo não apresenta as características mencionadas no protólogo de *B. glacialis*, e de acordo com os artigos 9.12 e 9.14 do Código de Internacional de Nomenclatura para Algas, Fungos e Plantas, propõe-se a designação de um lectótipo entre os parátipos de *B. glacialis*.

Por outro lado, sabe-se que a presença de exoperídio ornamentado por espinhos, subgleba compacta e basidiósporos punctados a verrucosos são características encontradas também em *Lycoperdon* (Kreisel, 1973). As análises filogenéticas desse trabalho apontam que essa espécie está em uma posição mais basal do clado de *Bovista*, contudo mais sequências são necessárias para determinar a posição filogenética dessa espécie.

4.7.7 *Bovista grandipora* Trierveiler-Pereira, Kreisel & Baseia, Mycotaxon 111: 415 (2010)

Figuras 13D–F, 17G

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subgloboso, 9–17 mm diam. $\times$ 8–10 mm alt., rizomorfias não visualizadas. **Exoperídio** não persistente, espinhoso a

verrucoso, branco alaranjado (KW 5A2). **Endoperídio** papiráceo, loiro escuro (KW 5D4), liso. **Gleba** pulverulenta ou cotonosa, marrom (KW 5F6). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por duas camadas pseudoparenquimatosas, a mais interna, com células subglobosas, piriformes e irregulares, $14\text{--}26,6 \times 10,7\text{--}20,9 \mu\text{m}$, parede $\leq 1,0 \mu\text{m}$, hialinas em KOH, e a mais externa composta por esferocistos em cadeia, globosos a subglobosos, piriformes, clavados e irregulares, $10,2\text{--}22,9 \times 8,1\text{--}15,8 \mu\text{m}$, parede $< 1 \mu\text{m}$, castanhas em KOH. **Endoperídio** filamentoso, $2,6\text{--}4,3 \mu\text{m}$ diam., parede $< 1 \mu\text{m}$, elástico, septos falsos presentes, com células infladas, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon em toda gleba, $2,5\text{--}5,7 \mu\text{m}$ diam., parede $< 1 \mu\text{m}$, subelástico a elástico, ramificações subseptais presentes, septos verdadeiros raros, septos falsos ausentes, poros frequentes, amarelados em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** globosos, $3,7\text{--}4,4 \times 3,8\text{--}4,6 \mu\text{m}$ [$Q_m = 1,02$; $x = 4,0 \pm 0,2$; $x = 4,1 \pm 0,2$; $n=30$], verrucosos, pedicelos curtos, $0,6\text{--}1 \mu\text{m}$.

Substrato: Crescendo no solo sobre grama.

Material examinado: BRASIL, Campus da Universidade Federal de Pernambuco. col. V.R. Coimbra & G. Melo, 04.II.2009 (URM 80067; URM 80068); Campus da Universidade Federal de Pernambuco, col. L. Trierveiler-Pereira & V.R. Coimbra, 02.III.2009 (URM 80069); idem, 14.IV.2009 (URM 80072; URM 80073); da Universidade Federal de Pernambuco, col. V.R. Coimbra & F. Wartchow, 13.IV.2009 (URM 80070; URM 80071).

Comentários: *Bovista grandipora* foi descrita por Trierveiler-Pereira & Baseia (2010) apresentando capilício tipo-lycoperdon com poros grandes (até $2 \mu\text{m}$), basidiósporos verruculosos e subgleba ausente. Assim como essa espécie, *Bovista singeri* V.L. Suárez & J.E. Wright também apresenta capilício tipo-lycoperdon com poros grandes (até $3 \mu\text{m}$) e subgleba ausente (Suárez & Wright, 1994). Contudo, *B. singeri* possui basidiósporos ovóides e verrucosos. *Bovista gunnii* (Berk.) Kreisel difere de *B. grandipora* pelos basidiósporos pedicelados (até $11 \mu\text{m}$) e pela presença de elementos hifálicos no exoestrato (Kreisel, 1967).

4.7.8 *Bovista halophila* Kreisel & Hauskn., Österreichische Zeitschrift für Pilzkunde 11: 192 (2002)

Figuras 13G–I, 17G

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subgloboso, $7\text{--}11 \text{ mm}$ diam. $\times$ $5\text{--}8 \text{ mm}$ alt., rizomorfa única, 3 mm alt., esbranquiçada. **Exoperídio** não persistente,

escamoso, branco a branco amarelado (KW 3A2). **Endoperídio** papiráceo, louro escuro (KW 5E4), liso. **Gleba** cotonosa ou pulverulenta, marrom (KW 5F4). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por uma camada de hifas quebradiças, $12,2\text{--}35,9 \times 3,7\text{--}7,5 \mu\text{m}$, parede $< 1,5 \mu\text{m}$, com formatos irregulares, hialinos a amarelados em KOH. **Endoperídio** filamentosos, $2\text{--}4,7$ ($-5,3$) μm , parede $\leq 1 \mu\text{m}$, ramificadas, septadas, com presença de células infladas, hialino a amarelado em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon em toda a gleba, $2,3\text{--}4,4$ (-5) μm diam., parede $\leq 1 \mu\text{m}$, subelástico a elástico ou quebradiço, ramificações subseptais e anfi-septais, septos verdadeiros frequentes, septos falsos raros, poros frequentes, amarronzado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Basidiósporos** globosos, $3,9\text{--}4,5 \times 3,9\text{--}4,6 \mu\text{m}$ [$Q_m = 1,02$; $x = 4,2 \pm 0,2$; $x = 4,3 \pm 0,2$; $n = 30$], verruculosos, pedicelos curtos, $0,8\text{--}2,1 \mu\text{m}$, retos, hialinos em KOH. **Substrato**: Solo arenoso próximo a *Scaevola taceata*.

Material examinado: LA RÉUNION, Saint Lou, Poite de Châteaux, col. A. Hausknecht, 19/II/2000 (WU 20607, holótipo).

Comentários: *Bovista halophila* foi descrita por Kreisel & Hausknecht (2002) e apresenta basidiomas pequenos, exoperídio escamoso e capilício tipo-lycoperdon com poros. Características semelhantes são encontradas em *B. californica*, com exceção do capilício, que é heteromórfico. *Bovista furfuracea* apresenta basidiósporos verruculosos e subgleba ausente, contudo, o capilício heteromórfico a permite separar de *B. halophila* (Moyersoen & Demoulin, 1996). O exoperídio escamoso e o exostrato hifálico também podem ser encontrados em *B. albosquamosa*, porém, esta possui basidiomas maiores e basidiósporos pedicelados.

4.7.9 *Bovista hollosii* Jeppson, Finy & E. Larss., Phytotaxa 268 (2): 147 (2016) Figuras 13J–L

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subgloboso, $10\text{--}12 \text{ mm}$ diam. $\times 12\text{--}14 \text{ mm}$ alt., com areia incrustada, rizomorfias não visualizadas. **Exoperídio** não visualizado. **Endoperídio** coriáceo, cinza amarronzado (KW 7F2–7D2), liso. **Gleba** pulverulenta, marrom (KW 6). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por duas camadas, a mais interna pseudoparenquimatosa, com células subglobosas a alongadas, $15,4\text{--}27,4$ ($-33,3$) $\times$

7,9–22,9(–28,6) μm , parede $\leq 1 \mu\text{m}$, hialinas em KOH, e a mais externa não visualizada. **Endoperídio** filamentosos, 3–4,4 μm diam., parede $\leq 1 \mu\text{m}$, elástico, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-bovista em toda a gleba, 10,9–26,9 μm diam., parede $\leq 9 \mu\text{m}$, disposto em unidades, com pontas acuminadas, septos ausentes, poros presentes somente nas extremidades, castanho em KOH, dextrinoide, cianofílico. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** subglobosos, 3,6–4,5 $\times$ 3,8–4,9 μm [$Q_m = 1,08$; $x = 4,4 \pm 0,2$; $x = 4,1 \pm 0,3$; $n=30$], punctados, com pedicelos longos 6,1–13,5 μm , retos.

Substrato: Em solo arenoso.

Material examinado: REPÚBLICA CHECA, Brünn in Mähren, col. Dr. J. Hruby, XII/1929 (M222095, como *B. tomentosa*).

Comentários: *Bovista hollosii* foi descrita por Jeppson *et al.* (2016) baseado em basidiomas sub-hipógeos que apresentam uma capa de areia” (*sand cup*) ao redor do exoperídio e capilício tipo-bovista. Essas características também são encontradas em *B. tomentosa*, *B. helenae*, *B. subcatastoma* e *B. disciseda*. Contudo, as principais diferenças entre essas espécies estão relacionadas ao capilício e ao basidiósporo: *Bovista tomentosa* apresenta capilício sem poros e basidiósporos ovóides, *B. helenae* possui capilício com diâmetro até 14 μm e poros frequentes em seus ramos terminais, *B. disciseda* possui capilício com diâmetro até 10 μm , com poros raros em seus ramos principais e basidiósporos globosos, e *B. subcatastoma*, com capilício robusto (até 23 μm diam.) e poros largos frequentes em seus ramos principais (Rebriev & Dvadenko, 2016; Rebriev *et al.*, 2017). Já *B. hollosii* possui capilício com pequenos poros em suas terminações e basidiósporos globosos a subglobosos, além de exoperídio escamoso na maturidade (Jeppson *et al.*, 2016). É reconhecido que os caracteres morfológicos dessas espécies podem ser sobrepostos e que estas podem compreender um complexo de espécies. Contudo, Jeppson *et al.* (2016) demonstraram que *B. tomentosa* e *B. hollosii* são espécies distintas. Ainda não foram obtidas sequências das outras espécies para confirmar suas identidades, portanto, nesse trabalho iremos considerar todas elas como espécies distintas.

4.7.10 *Bovista limosa* Rostr., Meddelelser om Grønland 18: 52 (1894)

Figuras 13M–O, 17I

$\equiv$ *Lycoperdon limosum* (Rostr.) Rauschert, Zeitschrift für Pilzkunde 25 (2): 52 (1959)

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subgloboso, 5–8 mm diam. × 4–9 mm alt., rizomorfas não visualizadas. **Exoperídio** não persistente, verrucoso, branco amarelado a castanho (KW 4A2–6F7). **Endoperídio** papiráceo, marrom a marrom escuro (KW 6E5–6F6), liso, com ostíolo fimbriado, peristômio delimitado. **Gleba** cotonosa, marrom (KW 6E5–6F5). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por uma camada pseudoparenquimatosa mais interna, com células subglobosas, clavadas, irregulares, 14,3–24,1 × 10,8–18,3 µm, parede ≤ 1,0 µm, hialinas em KOH, e a mais externa composta por hifas quebradiças, tortuosas, 3,1–6,1 µm, parede < 1 µm, hialinas em KOH. **Endoperídio** filamentoso, 3,1–4,7 µm diam., parede ≤ 1 µm, elástico, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon próximo ao ostíolo e na periferia, 2,6–4,2 µm diam., parede < 1 µm, subelástico a elástico, ramificações subseptais presentes, septos verdadeiros raros, septos falsos frequentes, poros ausentes, amorronzado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão, tipo-intermediário no centro da gleba, 4,6–11,6 µm diam., parede ≤ 3 µm, elástico, septos verdadeiros ausentes, septos falsos frequentes, poros ausentes, amorronzado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** subglobosos, 4,5–5,5 × 4,6–5,8 µm [$Q_m = 1,04$; $x = 5,0 \pm 0,4$; $x = 5,2 \pm 0,3$; $n=30$], punctados a verruculosos, pedicelos curtos a longos, 2,6–6,7 µm, retos.

Substrato: solo entre as ervas daninhas na estrada ou em pasto aberto.

Material examinado: BÉLGICA, Liège, Amblève, Chateau d' Amblève, col. V. Demoulin, 1972 (NY00065596). CANADÁ, Alberta, EIK Point, col. B. Askew, BA398, 26/VIII/1975 (NY1771757); idem, BA397, 26/VIII/1975 (NY1771758). ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, Michigan, Condado de Washtenaw, beira da estrada, col. J.N. Johnson, 30/V/1894 (NY 00064841). FINLÂNDIA, ao longo da estrada Lükasenvoara noirevr Sirkkpuro, col. Evhenoja, 24/VIII/1988 (NY1771759).

Comentários: *Bovista limosa* foi inserida no subg. *Globaria* na sect. *Geastroma* por apresentar uma característica única: endoperídio delimitado com ostíolo fimbriado, recordando o ostíolo de espécies de *Geastrum* Pers. De acordo com Kreisel (1967), *B. echinella* Pat. se distingue de *B. limosa* pela ausência de delimitação e de ostíolo fimbriado e presença de capilício tipo-bovista com poros. *Bovista pusilla* é morfologicamente similar a *B. limosa*, pois ambas apresentam basidiomas pequenos, exoperídio verrucoso e peristômio. Contudo, o peristômio de *B. pusilla* não é delimitado ou fimbriado e o capilício tipo-lycoperdon apresenta septos frequentes (Larsson et al., 2009).

4.7.11 *Bovista nigrescens* Pers., Neues Magazin für die Botanik 1: 86 (1794)

Figuras 14A–C, 17J

≡ *Lycoperdon globosum* Bolton, An History of Fungusses, Growing about Halifax 3: t. 118 (1789)

≡ *Bovista nigricans* Pers., J. Bot. (Schrader): 24 (1809)

≡ *Sackea nigrescens* (Pers.) Rostk., Deutschlands Flora, Abt. III. Die Pilze Deutschlands 5-18: 33, t. 15 (1839)

≡ *Lycoperdon nigrescens* (Pers.) Vittad., Monogr. Lycop.: 176 (1843)

≡ *Globaria nigrescens* (Pers.) Quél., Mémoires de la Société d'Émulation de Montbéliard 5: 372 (1873)

Basidioma imaturo subgloboso, 12–14 mm diam. × 3–4 mm alt., branco (KW1A1).

Basidioma expandido subgloboso, 14–21 mm diam. × 11–25 mm alt., rizomorfias não visualizadas. **Exoperídio** não persistente, verrucoso, branco amarelado (KW 4A2). **Endoperídio** coriáceo, inicialmente branco, tornando-se marrom acinzentado a negro (KW 6F4–7F4), metálico, liso. **Gleba** cotonosa, marrom chocolate (KW 5F5–6F4). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por duas camadas pseudoparenquimatosas, a mais interna composta por células subglobosas a alongadas, 17,1–37,9(–50,5) × 12,8–27,6 µm, parede ≤ 1 µm, hialinas em KOH, e a mais externa composta por esferocistos em cadeia, globosas a piriformes, 12,3–24,3 × 12–22,1 µm, parede ≤ 1 µm, hialinas a amareladas em KOH. **Endoperídio** filamentoso, 2,6–4,6 µm diam., parede ≤ 1 µm, elástico, septos falsos, presença de células infladas, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-bovista por toda a gleba, 6,5–12,8 µm diam., parede ≤ 3 µm, elástico, com terminações acuminadas, ramificações subseptais ausentes, septos ausentes, poros ausentes, amorronzado em KOH, ausência de reação em Melzer. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** subglobosos, 4,4–5,6 × 4,8–6,1 µm [$Q_m = 1,06$; $x = 5,0 \pm 0,3$; $x = 5,4 \pm 0,3$; $n=30$], punctados, pedicelos longos 3,4–13,2 µm, retos.

Substrato: Área aberta na floresta de *Abies rhododendron* ou solo seco.

Material examinado: NEPAL, Himalaia, Muhalangur Himal, Khumbu, Gorak Shep, 5.150–5200 m, col. J. Poelt., G21a, IX/1962 (M222092, como *B. bovistoides*); Himalaia, Muhalangur Himal, Khumbu, Pheriche, ± 4.300 m, col. J. Poelt., G11a, IX/1962 (M222093, como *B. fulva*); Himalaia, Vorhymalaya, Okhaldunga, Abies-Rhododendron – Wald um Thodung, ± 3.000 m, col. J. Poelt., G1, 9/X/1962 (M222094, como *B. fulva*).

Sequências adicionais obtidas: ESPANHA, MA-Fungi 4502, MA-Fungi 16953, MA-Fungi 24072, MA-Fungi 32350, MA-Fungi 73910.

Comentários: *Bovista nigrescens* é caracterizada por sua gleba de cor negra, presença de capilício *Bovista* e basidiósporos subglobosos com pedicelos longos. Essa espécie possui semelhança com *B. fulva*, mas a presença de exoperídio verrucoso e exostrato composto por elementos hifálicos e vesiculares (células clavadas e alongadas) diferencia essas duas espécies (Calonge, 1992). *Bovista sublaevispora* V.L. Suárez & J.E. Wright apresenta essas mesmas características que *B. nigrescens*, no entanto, difere quanto a presença de subgleba e aos basidiósporos, que são sublisos e apedicelados (Suárez & Wright, 1994). *Bovista nigrescens* é bastante similar a *B. bovistoides*, entretanto, a presença de subgleba compacta nesta última permite diferenciá-las (Kreisel, 1967).

4.7.12 *Bovista oblongispora* (Lloyd) Bottomley, *Bothalia* 4 (3): 580 (1948)

Figuras 14D–F, 17K

≡ *Bovistella oblongispora* Lloyd, *Mycological Writings* 5 (45): 632, t. 900 (1917)

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subgloboso, 5 mm diam. × 27 mm alt., rizomorfias não visualizadas. **Exoperídio** não persistente, verruculoso, marrom escuro (KW 6F6). **Endoperídio** papiráceo, amarelo claro (KW 4A4), liso. **Gleba** cotonosa, marrom (KW 5F5). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por uma camada de esferocistos em cadeia, subglobosos a piriformes, clavadas, vesiculares e irregulares $13,4\text{--}30,6 \times 11\text{--}20,9 \mu\text{m}$, parede $< 1,5 \mu\text{m}$, presença de micoesclereídeos, hialinas a amareladas em KOH. **Endoperídio** filamentosos, $2,9\text{--}4,2 \mu\text{m}$ diam., parede $\leq 1 \mu\text{m}$, elástico, ramificado, septos falsos frequentes, hialino amarelados em KOH. **Eucapilício** tipo-intermediário em toda a gleba, $3,5\text{--}5,7 \mu\text{m}$ diam., parede $< 1,5 \mu\text{m}$, elástico, septos verdadeiros e septos falsos ausentes, poros ausentes, amarronzados em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** alongados, $5,9\text{--}7,6 \times 3,7\text{--}4,8 \mu\text{m}$ [$Q_m = 1,64$; $x = 6,9 \pm 0,3$; $x = 4,2 \pm 0,4$; $n=30$], lisos, pedicelos curtos $2,7\text{--}4,6 \mu\text{m}$, retos.

Substrato: Não informado.

Material examinado: ÁFRICA DO SUL, Stellenbosch, col. Duthie Augusta Vera, sem data (BPI 706920, holótipo). BRASIL, Rio Grande do Sul, São Leopoldo, col. Rick, J., sem data (PACA 13781); Rio Grande do Sul, Santa Maria, Campus da UFSM; col. Cortez, V.G., 21/VII/2006 (ICN 154450). PORTO RICO, Cordilheira Central, ao longo da Hwy. 366 no 1,4 km, 0,8 milhas leste na junção com Hwy 120, col. W.R. Buck, 01/III/1981 (NY00064842). MÉXICO, Orizaba, Rio Blanco, Rincon Grande e El Barrio, Nuevo, em florestas úmidas e plantações de café, $\pm 4.000 \text{ ft.}$, col. W.A. Murrill & E.L.

Murrill, 10-14/I/1910 (NY 00064843); idem, Jalapa, em florestas úmidas, 5.000 ft., col. W.A. Murrill & E.L. Murrill, 12-20/XII/1909 (NY 00064844). JAMAICA, Cinchona, em regiões áridas montanhosas, 4.500-5.200 ft., col. W.A. Murrill & E.L. Murrill, 25-8/XII-I/1908-1909 (NY00064845).

Comentários: Não foi possível obter sequências ITS ou LSU dessa espécie, contudo, por sua morfologia a diferencia da maioria das espécies do gênero. *Bovista oblongispora* é facilmente identificada pelo capilício tipo-intermediário com poros, basidiósporos alongados e pedicelados, e subgleba ausente. *Bovista longispora* Kreisel possui morfologia semelhante a *B. oblongispora*, mas difere quanto ao capilício tipo-lycoperdon e a presença de subgleba. Ortega & Buendía (1985) consideram ambos os táxons sinônimos de *B. oblongispora*, propondo uma nova variação: *Bovista oblongispora* var. *longispora* (Kreisel) Ortega & G. Buendía. Outra espécie similar é *Bovista capensis* (Fr.) J.C. Coetzee & A.E. van Wyk, porém, apresenta subgleba compacta, basidiósporos lisos a punctados e exoestrato composto por hifas, diferentemente do que é visto em *B. oblongispora*, que possui exoestrato composto por pseudoparênquima. *Bovista himalaica* Yousaf, Kreisel & Khalid difere de *B. oblongispora* por apresentar basidiomas piriformes, subgleba compacta, exoestrato pseudoparenquimatoso e basidiósporos subglobosos a obovoides.

4.7.13 *Bovista pusilliformis* (Kreisel) Kreisel, Feddes Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis 69: 202 (1964)

Figuras 14G–I, 17L

≡ *Lycoperdon pusilliforme* Kreisel, Feddes Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis 64: 132 (1962)!

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subgloboso a subpiriforme, 15 mm diam. × 16 mm alt., rizomorfias não visualizadas. **Exoperídio** persistente, verrucoso, marrom amarelado (KW 5E5). **Endoperídio** papiráceo, bege (KW 4C3), liso. **Gleba** cotonosa, marrom (KW 6E6). **Subgleba** reduzida, 0,2 mm, marrom acinzentado (KW 5D3), compacta.

Exoperídio composto por duas camadas, a mais interna pseudoparenquimatosa, com células subglobosas a alongadas e irregulares, 27,3–62,3 × 18,4–57,5 µm, parede < 1,5 µm, hialinas em KOH, e a mais externa composta por esferocistos em cadeia, subglobosas a alongadas e piriformes, 8,6–19,7 × 6,6–17,3 µm, parede < 1,5 µm, amareladas a hialinas em KOH. **Endoperídio**

filamentoso, 2,5–4,1 μm diam., parede $< 1 \mu\text{m}$, septos falsos ausentes, amarelado a hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon em toda a gleba, 2,9–5,4(–6,1) μm diam., parede $\leq 1 \mu\text{m}$, elástico a subelástico, com terminações acuminadas, ramificações subseptais raras, septos verdadeiros e septos falsos raros, poros frequentes, amorronzado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** subglobosos a levemente ovóides, 3,7–4,8 $\times$ 3,3–4,3 μm [$Q_m = 1,14$; $x = 4,2 \pm 0,2$; $x = 3,7 \pm 0,3$; $n=30$], verrucosos, com pedicelos curtos 0,5–1 μm , retos.

Substrato: Solo arenoso.

Material examinado: ALEMANHA, Sachsen-Anhal, Quedlinburg, Steinholtz, col. H. Kreisel, 25/IX/1958 (M222078, isótipo).

Sequências adicionais obtidas: ESPANHA, MA-Fungi 4027 (como *B. colorata*), MA-Fungi 32348 (como *B. pusilla*), MA-Fungi 43275, MA-Fungi 74655 (como *B. cunnighamii*), MA-Fungi 74733 (como *B. cunnighamii*), MA-Fungi 75180 (como *Bovista* sp.).

Comentários: *Bovista pusilliformis* foi proposta por Kreisel (1964) sempre apresentando subgleba compacta, capilício tipo-lycoperdon ou heteromórfico (até 11 μm diam.), com poros frequentes, basidiósporos globosos, punctados a verrucosos e exosestrato composto por esferocistos em cadeia. Morfologicamente *B. pusilliformis* é similar a *B. aestivalis*; Calonge & Demoulin (1975), analisando diversas coleções sob o nome de *B. aestivalis* coletadas na Espanha, demonstraram que *B. aestivalis* era uma espécie bastante polimórfica cujas características dependiam de fatores ambientais, ou no caso do capilício, da região da gleba em que foi analisada. Demoulin (1979) confirmou a identidade de *B. aestivalis*, considerando *B. pusilliformis* como uma das espécies sinônimas. Ortega & Buendía (1989) consideraram *B. pusilliformis* também como um sinônimo *B. aestivalis*; no entanto, dada a grande variação encontrada na forma e ornamentação dos basidiósporos (de lisos a verrucosos) de *B. aestivalis*, Ortega & Buendia (1989) propuseram uma nova variedade: *Bovista aestivalis* var. *perverrucispora*.

As análises filogenéticas desse estudo indicam que *B. pusilliformis* é uma espécie distinta de *B. aestivalis* e que *B. aestivalis* poderia constituir um complexo de espécies. Contudo, para confirmar essa hipótese são necessários maiores estudos morfológicos além da adição de mais marcadores moleculares para solucionar a posição filogenética dessas espécies.

4.7.14 *Bovista reunionis* Kreisel & Hauskn., Österreichische Zeitschrift für Pilzkunde 15: 137 (2006)

Figuras 14J–L, 17M

Basidioma imaturo subgloboso, 22 mm diam. × 8 mm alt., marrom claro (KW 6D5).

Basidioma expandido subgloboso, 35 mm diam. × 10 mm alt., rizomorfa única, 10 mm alt., branca com detritos aderidos. **Exoperídio** não persistente, verrucoso, tornando-se furfuráceo, marrom escuro (KW 6F7). **Endoperídio** papiráceo, marrom (KW 6E4), liso. **Gleba** cotonosa, castanho (KW 6D8–6E6). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por duas camadas pseudoparenquimatosas, a mais interna com células subglobosas a alongadas, 8,4–17,9 × 10,5–21,1 µm, parede < 2 µm, hialinas em KOH, a mais externa composta por esferocistos em cadeia, globosos a subglobosos, raramente piriformes, 14–40,6 × 12,3–34,5 µm, parede ≤ 2,5 µm, amareladas em KOH. **Endoperídio** filamentosos, 3,1–4,4 µm diam., parede ≤ 1 µm, elástico, septos falsos raros, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-intermediário em toda a gleba, 3,7–12,9 µm diam., parede < 2 µm, subelástico a elástico, ramificações anfileptais frequentes, septos verdadeiros frequentes, septos falsos raros, poros frequentes, amarronzado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiósporos** subglobosos, 3,4–4,3 × 3,6–4,8 µm [$Q_m = 1,09$; $x = 3,8 \pm 0,3$; $x = 4,1 \pm 0,2$; $n = 30$], verruculosos, pedicelos longos, 3,6–19,1 µm, retos.

Substrato: No gramado, próximo a árvores tropicais no camping.

Material examinado: LÁ RÉUNION, Étang–Salé–les–Bains, Chantis Emplois–Verts, no gramado, próximo a árvores tropicais no camping, col. A. Hausknecht, 25/III/2005 (WU 23995, holótipo).

Comentários: Segundo Kreisel & Hausknecht (2006), *Bovista reunionis* apresenta capilício tipo-bovista com poros, basidiósporos pedicelados e subgleba ausente. Contudo, o capilício do holótipo é tipo-intermediário.

Bovista sempervirentium é caracterizado por capilício tipo-intermediário com poros, mas difere de *B. reunionis* pelo exostrato hifálico e a presença de subgleba (Kreisel, 1967). O exostrato pseudoparenquimatoso e o capilício tipo-intermediário pode ser encontrado em *B. fuegiana* V.L. Suárez & J.E. Wright, todavia, distingue-se de *B. reunionis* pela presença de subgleba e pelos basidiósporos verrucosos e apedicelados (Suárez & Wright, 1994).

4.7.15 *Bovista sclerocystis* Calonge, Kreisel & Guzmán, *Mycologia* 96 (5): 1152 (2004)

Figuras 14M–O, 17N, O

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subgloboso a piriforme, 11–21 mm diam. × 8–18 mm alt, rizomorfias não visualizadas. **Exoperídio** não persistente, granuloso a verrucoso, marrom amarelado (KW 5E6), conspicuo. **Endoperídio** papiráceo, louro escuro (KW 5D4), liso. **Gleba** pulverulenta a cotonosa, marrom (KW 5E4–6F4). **Subgleba** ausente. **Pseudoestipe** ausente ou presente, 2–7 mm alt.

Exoperídio composto por uma camada pseudoparenquimatosa, com micoesclereídeos, 25,1–33,2 × 21,8–58,3 µm parede < 4 µm, hialinos a amarelados em KOH. **Endoperídio** filamentoso, 2–3,1 µm, parede < 1 µm, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon em toda a gleba, 1,9–3,2 µm diam., parede < 1,5 µm, septos verdadeiros e falsos ausentes, poros ausentes, castanho em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** presente, 1,5–2,4 µm, septos falsos presentes, hialinos em KOH, com substância amorfa. **Basidiósporos** globosos, 3,1–3,4 × 3,1–3,4 µm [$Q_m = 1,02$; $x = 4,6 \pm 0,3$; $x = 4,5 \pm 0,3$; $n=30$], sublisos, pedicelos curtos, 0,5–1,2 µm, retos.

Substrato: no solo, em área de florestas de perenifólias com atuação antrópica.

Material examinado: MÉXICO, Chiapas, Ocozocoautla, Natural Reserve El Ocote, col. G. Carrión 823, 15/II/1986 (XAL823, holótipo; MA-Fungi 52379, isótipo).

Comentários: *Bovista sclerocystis* apresenta duas características importantes: um exostrato composto somente por micoesclereídeos e a presença de um pseudoestipe (Calonge *et al.*, 2004). Na descrição original, os autores descrevem-na com capilício tipo-intermediário, porém, todos os espécimes analisados apresentaram somente capilício tipo-lycoperdon. Em relação ao desenvolvimento do pseudoestipe, observou-se que alguns espécimes possuíam tal característica e outros não. Uma vez que todos os outros caracteres foram visualizados nos espécimes, considerou-se que a presença ou ausência do pseudoestipe está diretamente relacionada ao desenvolvimento dos basidiomas. A presença de basidiósporos sublisos pode ser observado em *B. cunninghamii*, mas a presença de capilício tipo-intermediário separa essas duas espécies (Calonge, 1992). O capilício tipo-lycoperdon é visualizado em *B. glacialis*, no entanto, o exoperídio e os basidiósporos verrucoso, além do exostrato pseudoparenquimatoso permite separar essas espécies. *Bovista septina* se diferencia de *B. sclerocystis* pela

presença de capilício tipo-intermediário, basidiósporos globosos a ovoides ($6-7 \times 5 \mu\text{m}$) e presença de subgleba compacta (Kreisel & Calonge, 1996).

4.7.16 *Bovista tomentosa* (Vittad.) Quél., *Sylloge Fungorum* 7: 97 (1888)

Figuras 15A–C

≡ *Lycoperdon tomentosum* Vittad., Mem. Accad. Torino 5: 179, 1:10 (1842)

≡ *Globaria tomentosa* (Vittad.) Quél., Enchiridion Fungorum in Europa media et praesertim in Gallia Vigentium: 239 (1886)

= *Bovista minor* Morgan, Journal of the Cincinnati Society of Natural History 14 (3-4): 147 (1892)!

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subgloboso, 14–22 mm diam. $\times$ 15–21 mm alt., rizomorfias não visualizadas. **Exoperídio** não visualizado.

Endoperídio coriáceo, marrom claro a marrom escuro (KW 6D4–7F3), liso. **Gleba** cotonosa, marrom escuro (KW 6F4). **Subgleba** ausente.

Exoperídio não visualizado. **Endoperídio** filamentosos, 2,5–3,9 μm diam., parede $\leq 1 \mu\text{m}$, elástico, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-bovista por toda a gleba, 9,5–13 μm diam., parede $\leq 6 \mu\text{m}$, elástico, com terminações acuminadas, ramificações subseptais ausentes, septos ausentes, poros presentes nas terminações, amorrizado em KOH, ausência de reação em Melzer e azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** subglobosos, $3,3-3,9 \times 3,6-4,3 \mu\text{m}$ [$Q_m = 1,11$; $x = 3,5 \pm 0,2$; $x = 3,9 \pm 0,4$; $n=30$], punctados, pedicelos longos 7,2–16,1 μm , retos.

Substrato: Prados.

Material examinado: Material examinado: Estados Unidos da América, Ohio, Miami Valley, col. A.P. Morgan, XII/1894 (NY00064850, isótipo de *B. minor*).

Material examinado molecular: ESPANHA, MA-Fungi 1763, MA-Fungi 20726.

Comentários: *Bovista minor* foi descrita por Morgan em 1892, compreendendo uma espécie com capilício tipo-bovista, basidiósporos ovoides e subgleba ausente. Kreisel (1967) manteve *B. minor* e *B. tomentosa* como espécies distintas baseado em caracteres ecológicos, no qual a primeira ocorreria em regiões úmidas e a última ocorreria em localidades áridas. A hipótese de que esse caractere não apresenta valor taxonômico foi comprovada molecularmente por Larsson & Jeppson (2008) e atualmente essas espécies são consideradas sinônimas (Bautista-Hernández *et al.*,

2011). Nesse trabalho é corroborado o resultado obtido por esses autores, através da análise del isótipo de *B. minor*.

4.7.17 *Bovista* sp. nov. 4

Figuras 15D–F, 18A

Holótipo: BRASIL, Rio Grande do Norte, Serra Negra do Norte, ESEC Seridó, col. E.P. Fazolino, 2008 (UFRN–Fungos 818)!

Basidioma imaturo globoso 4–6 mm diam. × 4–6 mm alt. **Basidioma expandido** globoso a subgloboso, 9–15 mm diam. × 10–15 mm alt, rizomorfias esbranquiçadas, 4–10 mm alt., com incrustações do solo. **Exoperídio** não persistente, verrucoso a furfuráceo, champanhe (KW 4B4), inconspícuo. **Endoperídio** papiráceo, louro escuro (KW 5D4), liso. **Gleba** cotonosa, marrom (5E5). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por duas camadas pseudoparenquimatosas, a mais interna com células subglobosas e irregulares, 13–23,5 µm × 12,2–18,6 µm, parede < 2 µm, hialinos em KOH, com presença de micoesclereídeos, a mais externa composta por esferocistos em cadeia, 13,5–41,6 × 9,7–22,8 µm, parede < 2 µm, hialinos a amarelados em KOH. **Endoperídio** filamentoso, 2–4,3 µm, parede < 1,5 µm, septos falsos presentes, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon, 2–5,5 µm diam., parede < 1,5 µm, ramificações subseptais, septos verdadeiros raros, septos falsos ausentes, poros frequentes, castanho em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiósporos** globosos, 3,9–5,2 × 3,7–5,1 µm [$Q_m = 1,02$; $x = 4,6 \pm 0,3$; $x = 4,5 \pm 0,3$; $n=30$], verrucosos, pedicelos curtos, 0,9–1,5 µm, retos.

Substrato: Solo com gramíneas.

Material examinado: BRASIL, Rio Grande do Norte, Serra Negra do Norte, ESEC Seridó, col. E.P. Fazolino, B.D.B. Silva, M.I.M. Concentino, J.J.S. Oliveira & R.H.S.F. Cruz, 24/II/2009 (UFRN-Fungos 1191); Ceará, Viçosa do Ceará, APA da Serra de Ibiapaba, Localidade Juá dos Vieiras, col. A.C.M. Rodrigues, M.C.A. Sá & F. Wartchow, 25/IV/2013 (UFRN-Fungos 1944); Ceará, Viçosa do Ceará, APA da Serra de Ibiapaba, Trilha da Pirapora (Engenho Velho), col. A.C.M. Rodrigues, M.C.A. Sá & F. Wartchow, 25/IV/2013 (UFRN-Fungos 2071); Rio Grande do Norte, Natal, Centro de Biociências, Estacionamento do Centro, col. A.C.M. Rodrigues & B.D.B. Silva, 07/VII/2015 (UFRN-Fungos 2663); Rio Grande do Norte, Natal, Centro de Biociências, Estacionamento do Centro, col. J.O. Sousa, 20/V/2011 (UFRN-Fungos 2664); idem, col. J.O. Souza & Silva, B.D.B., 09/X/2014 (UFRN-Fungos 2665).

Comentários: *Bovista* sp. nov. 4 é bastante similar morfológicamente a *Bovista furfuracea* Pers., espécie reconhecida por Moyersoen & Demoulin (1996) e outros autores (Bates *et al.*, 2009). Ambas apresentam basidiomas pequenos e globosos, capilício tipo-lycoperdon com poros frequentes, basidiósporos verruculosos e subgleba ausente. *Bovista cunninghamii* possui características semelhantes a *Bovista* sp. nov. 4, mas o capilício tipo-intermediário e os basidiósporos sublisos separam essas duas espécies. A presença de capilício tipo-intermediário no centro da gleba, subgleba compacta e rizomorfias robustas separam *B. aestivalis* e *Bovista* sp. nov. 4. *Bovista pusilliformis* também pode apresentar capilício do tipo-lycoperdon com poros frequentes, porém, a subgleba compacta e os basidiósporos levemente ovóides distinguem-na de *Bovista* sp. nov. 4. O exoestrato pseudoparequimatoso pode ser visualizado em *B. coprophila* (Cooke & Masee) G. Cunn., todavia, o capilício heteromórfico, os basidiósporos subglobosos a elipsóides e a presença de subgleba distinguem essa espécie de *Bovista* sp. nov. 4.

4.7.18 *Bovista* sp. nov. 5

Figuras 15G–I

Holótipo: Brasil, Paraíba, Areia, Parque Mata do Pau-Ferro, col. I.G. Baseia, 03/VII/2005 (UFRN-Fungos 2609)!

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** globoso, 32 mm diam. × 32 mm alt., rizomorfias ausentes. **Exoperídio** não visualizado. **Endoperídio** coriáceo, amarelo amarronzado (KW 5C8), rígido, liso. Gleba cotonosa, marrom (KW 6E5). Subgleba ausente.

Exoperídio não visualizado. **Endoperídio** filamentosos, 2,8–4,1 µm diam., parede ≤ 1 µm, elástico, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-bovista em toda a gleba, 10,1–15,9 µm diam., parede < 4 µm, disposto em unidades, extremidades acuminadas, septos verdadeiros e septos falsos ausentes, poros nas terminações, amarronzado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** globosos, 4,5–5,1 × 4,7–4,3 µm [$Q_m = 1,03$; $x = 4,0 \pm 0,2$; $x = 4,1 \pm 0,2$; $n = 30$], sublisos, pedicelos curtos, 0,6–1,1 µm, retos.

Substrato: Solo.

Material examinado: Somente o holótipo.

Comentários: *Bovista* sp. nov. 5 é caracterizada por um basidioma coriáceo, capilício tipo-bovista e basidiósporos sublisos com pedicelos curtos. Essa espécie é

similar a *B. kreiselii*, contudo o capilício tipo-intermediário e os basidiósporos são subglobosos a ovoides (tamanho) (Trierveiler-Pereira *et al.*, 2018). *Bovista acocksii* De Villiers, Eicker & Van der Westh. apresenta capilício tipo-bovista e subgleba ausente, porém difere de *Bovista* sp. nov. 5 pelos basidiósporos subglobosos ($4,6\text{--}5,5 \times 3,7\text{--}4,6 \mu\text{m}$), exoperídio furfuráceo a areolado e endoperídio flácido (Villers *et al.*, 1989). *Bovista fulva* possui morfologia próxima dessa espécie, com exoperídio verrucoso, subgleba ausente e capilício tipo-bovista. No entanto, *B. fulva* tem basidiósporos subglobosos, verrucosos e pedicelados, enquanto *Bovista* sp. nov. 5 possui basidiósporos sublisos e com pedicelos curtos.

4.7.19 *Bovista* sp. nov. 6

Figuras 15J–L, 18B

Holótipo: BRASIL, Rio Grande do Norte, Natal, Parque Estadual Dunas do Natal, col. A.C.M. Rodrigues, N.M. Assis & I.G. Baseia, 07/IV/2016 (UFRN-Fungos 2861)!

Basidioma imaturo subgloboso, 13 – 18 mm diam. $\times$ 12 – 17 mm alt., branco.

Basidioma expandido subgloboso, 14–19 mm diam. $\times$ 10–18 mm alt., com areia incrustada, rizomorfias não visualizadas. **Exoperídio** não persistente, verruculoso, tornando-se furfuráceo, marrom (KW 5F8). **Endoperídio** papiráceo, louro escuro (KW 5D4), liso. **Gleba** cottonosa ou pulverulenta, marrom (KW 6E5). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por duas camadas pseudoparenquimatosas, a mais interna composta por células claviformes, septiformes e irregulares, $17,1\text{--}30,2 \times 13,2\text{--}9,8 \mu\text{m}$, parede $\leq 1,0 \mu\text{m}$, hialinas em KOH, presença de micoesclereídeos, e a mais externa composta por esferocistos em cadeia, globosos, subglobosos a piriformes $14,1\text{--}24,7 \times 11,7\text{--}15,2\text{--}(19,5) \mu\text{m}$, parede $< 1,5 \mu\text{m}$, amareladas em KOH. **Endoperídio** filamentoso, $3,1\text{--}3,9 \mu\text{m}$ diam., parede $\leq 1 \mu\text{m}$, elástico, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon em toda a gleba, $3\text{--}4,8 \mu\text{m}$ diam., parede $\leq 1 \mu\text{m}$, elástico a subelástico, septos verdadeiros e septos falsos ausentes, poros frequentes, amarelado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** globosos, $3,6\text{--}4,4 \times 3,6\text{--}4,3 \mu\text{m}$ [$Q_m = 1,03$; $x = 4,0 \pm 0,2$; $x = 4,1 \pm 0,2$; $n=30$], verruculosos, pedicelos curtos, $0,7\text{--}1,2 \mu\text{m}$, retos.

Substrato: Solo arenoso.

Material examinado: Somente o holótipo.

Comentários: *Bovista* sp. nov. 6 é caracterizada macroscopicamente por basidiomas crescendo em solo arenoso, exoperídio granuloso e subgleba ausente. Microscopicamente apresenta capilício do tipo-lycoperdon com poros frequentes, presença de micoesclereídeos no exoestrato e basidiósporos globosos, verrucosos, com pedicelos curtos. *B. sclerocystis* pode ser considerada uma espécie semelhante a *Bovista* sp. nov. 6. Ambas compartilham a presença de micoesclereídeos no exoestrato, basidiósporos globosos e verrucosos, e ausência de subgleba. Contudo, o capilício encontrado em *B. sclerocystis* difere de *Bovista* sp. nov. 6, sendo do tipo-intermediário, sem poros no primeiro e do tipo-lycoperdon e com poros frequentes no último. *Bovista grandipora* apresenta características do capilício similares as de *Bovista* sp. nov. 6, porém, o exoestrato da primeira é composto por elementos hifálicos e pseudoparênquima, enquanto de *Bovista* sp. nov. 6 é composta somente por pseudoparênquima. A frequência de poros também é uma característica observada em *B. delicata*, contudo, os basidiósporos globosos a elipsoides e pedicelados (3 –36 µm) permite separar as duas espécies. Embora apenas uma coleção tenha sido estudada, as características de *Bovista* sp. nov. 6 não são encontradas em nenhuma outra espécie do gênero e por isso está sendo considerada uma nova espécie.

4.7.20 *Bovista* sp. nov. 7

Figuras 15M–O

Holótipo: BRASIL, Paraíba, Triunfo, Sítio Jenipapeiro, col. G.S. Baracho, sem data, S 06°36'18" W 38°32'44", 273 m alt., PB 03 (UFRN–Fungos 1174)!

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** globoso a subgloboso, 12–22 mm diam. × 12–17 mm alt., com rizomorfa única, 3–10 mm alt., com detritos aderidos. **Exoperídio** não persistente, escamoso, desaparecendo da base para o ápice, branco a branco amarelado (KW 4A2). **Endoperídio** papiráceo, marrom amarelado (KW 5D4–5E4), liso. **Gleba** cotonosa, marrom (KW 5F5–5F6). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por hifas quebradiças, 2,5–5,3 µm diam., parede ≤ 1 µm, septadas, hialinas em KOH. **Endoperídio** filamentoso, 2,3–4,5 µm diam., septado, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon em toda a gleba, 2–3,2 µm diam., parede ≤ 1,5 µm, subelástico a quebradiço, ramificado, poros raros, septos verdadeiros e falsos ausentes, amarelado em KOH, levemente dextrinoides,

ausência de reação em azul de algodão. **Basidiósporos** globosos, 4,2–5,2 × 4,4–5,2 µm [$Q_m = 1,02$; $x = 4,7 \pm 0,2$; $x = 4,8 \pm 0,2$; $n = 30$], sublisos, pedicelos curtos, 0,5–1,3 µm, retos. **Substrato:** solo.

Material examinado: BRASIL, Rio Grande do Norte, Serra Negra do Norte, Estação Ecológica do Seridó, col B.D.B. Silva, M.I.M. Cocentino, J.J.S. Oliveira, R.H.S.F. Cruz & E.P. Fazolino, 24/II/2009 (UFRN-Fungos 1174, como *B. delicata*).

Comentários: *Bovista* sp. nov. 7 compreende basidiomas com exoperídio escamoso, subgleba ausente, capilício tipo-lycoperdon e basidiósporos verruculosos. O exoperídio escamoso e a ausência de subgleba também podem ser visualizados em *B. albosquamosa*, *B. californica* e *B. halophila*. No entanto, o capilício hetermórfico e os basidiósporos verrucosos pedicelados de *B. albosquamosa* e de *B. californica*, permitem distinguir essas espécies de *Bovista* sp. nov. 7, bem como os pequenos basidiomas com ostíolo fimbriado, e o capilício mais robusto com poros frequentes vistos em *B. halophila*. *Bovista acocksii* possui exoestrato hifálico, mas apresenta capilício tipo-bovista e basidiósporos ovóides.

4.7.21 *Bovista* sp. nov. 8

Figuras 16A–C, 18C

Holótipo: BRASIL, Pernambuco, Buíque, Parque Nacional Vale do Catimbau, col. J.J.S. Oliveira, 16/IV/2009 (UFRN-Fungos 1036)!

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subgloboso, 9 mm diam. × 8–10 mm alt., com rizomorfa única, branca, com detritos aderidos. **Exoperídio** composto por dois estratos, sendo o mais externo verrucoso, marrom escuro (KW 6F4), não persistente, e o outro liso, papiráceo, marrom a marrom escuro (KW 6E5–6F5), persistente. **Endoperídio** papiráceo, amarelo claro (KW 4A4), liso. **Gleba** cotonosa, marrom oliva (KW 3D5–4D5). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por duas camadas, a mais interna pseudoparenquimatosa, com células subglobosas a piriformes, 17,3–49,9 × 14,8–27,6 µm, parede ≤ 2,5 µm, hialinas em KOH, a mais externa composta por hifas quebradiças irregulares e células infladas, 12,4–55,1 × 8,4–15,6 × 1,2–6,7 µm, parede ≤ 1,5 µm, septadas, hialinas a amareladas em KOH. **Endoperídio** filamentoso, 2,1–3,6 µm diam., parede ≤ 1 µm, septado, hialino em KOH. **Eucapílico** tipo-lycoperdon em toda a gleba, 2,1–4,1 µm diam., parede < 1,5 µm, ramificações subseptais, septos verdadeiros presentes, septos falsos ausentes, poros frequentes,

hialino em KOH, levemente dextrinoide, ausência de reação em azul de algodão.

Paracapilício ausente. **Basidiósporos** globosos a subglobosos, $3,8\text{--}4,7 \times 4\text{--}4,8 \mu\text{m}$ [$Q_m = 1,04$; $x = 4,2 \pm 0,2$; $x = 4,4 \pm 0,2$; $n = 30$], sublisos a verruculosos, com pedicelos curtos $0,8\text{--}2 \mu\text{m}$, retos.

Substrato: Solo.

Material examinado: BRASIL, Ceará, Viçosa do Ceará, APA da Serra de Ibiapaba, Trilha da Pirapora (Engenho Velho), col. A.C.M Rodrigues, M.C.A. Sá & F. Wartchow, 25/IV/2013 (UFRN–Fungos 1948).

Comentários: *Bovista* sp. nov. 8 é caracterizada por basidiomas pequenos (até 10 mm), exoperídio verrucoso, capilício tipo-lycoperdon com poros e exoestrato com elementos hifálicos e pseudoparenquimatosos. Essa última característica pode ser visualizada em *B. kreiselii*, contudo, o capilício tipo-intermediário e os basidiósporos subglobosos a ovoides desta espécie a distinguem de *Bovista* sp. nov. 8 (Trierveiler-Pereira *et al.*, 2018).

Bovista semperventinum Kreisel e *B. herrerae* Kreisel possuem exoperídio verrucoso e basidiósporos globosos com ornamentação verruculosa semelhante a *Bovista* sp. nov. 8, porém, apresentam capilício tipo-intermediário e exoestrato hifálico, o que não ocorre nessa espécie. *Bovista* sp. nov. 8 e *B. colorata* podem ser consideradas espécies morfologicamente semelhantes, ambas possuem exoperídio verrucoso, capilício tipo-lycoperdon com poros e basidiósporos verruculosos, mas a presença de subgleba e o exoperídio exclusivamente pseudoparenquimatoso em *B. colorata* permite a separação dessas espécies. O capilício tipo-lycoperdon com poros raros e o exoperídio composto por esferocistos encontrado em *B. dryina* (Morgan) Demoulin pode diferenciá-la de *Bovista* sp. nov. 8, uma vez que esta apresenta exoestrato com elementos hifálicos e células infladas, e capilício tipo-lycoperdon com poros abundantes. *Bovista sublaevispora* possui basidiósporos sublisos a verruculosos assim como *Bovista* sp. nov. 8, mas diferem no tipo de capilício e na presença de subgleba em *B. sublaevispora*.

4.7.22 *Bovista* sp. nov. 9

Figuras 16D–F

Holótipo: BRASIL, Pernambuco, Buíque, Parque Nacional Vale do Catimbau (Breu), col. T.B.S Ottoni, 22/VII/2007 (UFRN–Fungos 1283)!

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** globoso, 30 mm diam. × 27 mm alt., rizomorfa ausente. **Exoperídio** não visualizado. **Endoperídio** coriáceo, (KW 8F4), liso. **Gleba** lanosa, (KW 6F5). **Subgleba** ausente.

Exoperídio não visualizado. **Endoperídio** filamentosos, 3,2–3,8 µm diam., parede ≤ 1 µm, elástico, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon em toda a gleba, 4,8–8,2 µm diam., parede < 1,5 µm, subelástico a quebradiço, ramificação subseptal, septos verdadeiros e falsos ausentes, poros raros, castanho em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** globosos, 4,6–4,8 × 4,6–4,9 µm [$Q_m = 1,03$; $x = 3,8 \pm 0,2$; $x = 3,9 \pm 0,2$; $n = 30$], verrucosos, com pedicelos curtos, 0,5–1,3 µm, retos.

Substrato: Solo arenoso.

Material examinado: BRASIL, Pernambuco, Buíque, Parque Nacional Vale do Catimbau, col. T.B.S Ottoni, 11/II/2007 (UFRN-Fungos 945).

Comentários: *Bovista* sp. nov. 9 é caracterizada por basidiomas coriáceos, capilício tipo-lycoperdon quebradiço e basidiósporos verrucosos. *Bovista glacialis* e *B. fuegiana* possuem basidiósporos verrucosos, mas a primeira difere dessa espécie pelo endoperídio flácido, e a segunda tem capilício tipo-intermediário e subgleba compacta (Kreisel, 1967; Suárez & Wright, 1994). O capilício tipo-lycoperdon quebradiço associado a basidiósporos verrucosos e exoperídio hifálico são encontrados em *Calvatia bicolor* (Lév.) Kreisel, mas nos espécimes examinados de *Bovista* sp. nov. 9 observou-se a presença de esferocistos na camada mais externa do perídio. Essa espécie difere de *Bovista cunninghamii* pelo basidioma coriáceo e pelo capilício tipo-lycoperdon (Kreisel, 1967). A coloração enegrecida do perídio também é vista em *B. nigrescens*, contudo, esta difere de *Bovista* sp. nov. 9 pelo capilício tipo-bovista, e basidiósporos subglobosos pedicelados.

4.7.23 *Bovista* sp. nov. 10

Figuras 16G–I, 18D

Holótipo: BRASIL, Rio Grande do Norte, Natal, Parque Estadual Dunas do Natal, col. E.P Fazolino, 05/VII/2008 (UFRN-Fungos 776).

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** globoso, 10 mm diam. × 10 mm alt., rizomorfa única, 19 mm alt., branca, com areia incrustada. **Exoperídio** não persistente, verrucoso, marrom escuro (KW 6F3). **Endoperídio** papiráceo, laranja

acinzentado (KW 5B3), liso. **Gleba** pulverulenta, marrom oliva (KW 4E5). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por duas camadas pseudoparenquimatosas, a mais interna composta por células alongadas, claviformes, reniformes, $16,4\text{--}22,1 \times 10,2\text{--}15,8 \mu\text{m}$, parede $\leq 1,0 \mu\text{m}$, hialinas em KOH, presença de micoesclereídeos, e a mais externa composta por esferocistos em cadeia, subglobosos e piriformes $12,4\text{--}20,7 \times 9,4\text{--}16,5 \mu\text{m}$, parede $\leq 1,0 \mu\text{m}$, castanhas em KOH. **Endoperídio** filamentosos, $2,8\text{--}3,2 \mu\text{m}$ diam., parede $\leq 1 \mu\text{m}$, elástico, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon em toda a gleba, $4,0\text{--}6,5(-7,1) \mu\text{m}$ diam., parede $\leq 1 \mu\text{m}$, subelástico a quebradiço, ramificação subseptal, septos verdadeiros raros, septos falsos ausentes, poros frequentes, amarelado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** globosos, $3,5\text{--}4,1 \times 3,6\text{--}4,3 \mu\text{m}$ [$Q_m = 1,03$; $x = 3,8 \pm 0,2$; $x = 3,9 \pm 0,2$; $n=30$], punctados, pedicelos curtos, $0,5\text{--}0,7 \mu\text{m}$, retos.

Substrato: Solo arenoso.

Material examinado: Somente o holótipo.

Comentários: *Bovista* sp. nov. 10 é similar morfológicamente a *B. cunninghamii* em virtude de seu basidioma pequeno e globoso, e ausência de subgleba. Entretanto, essas espécies podem ser diferenciadas por duas características: capilício, tipo-intermediário em *Bovista cunninghamii* e tipo-lycoperdon em *Bovista* sp. nov. 10, e basidiósporos, verrucosos em *Bovista* sp. nov. 10 e lisos em *B. cunninghamii* (Kreisel, 1967). *Bovista halophila* e *Bovista* sp. nov. 10 possuem capilício tipo-lycoperdon com poros frequentes, todavia, apresentam exoestratos diferentes: *Bovista* sp. nov. 10 é formada por pseudoparênquima e *B. halophila* é formada somente por hifas (Kreisel & Hausknecht, 2002). *Bovista singeri*, outra espécie semelhante a *Bovista* sp. nov. 10, também possui basidiomas pequenos e verrucosos, capilício tipo-lycoperdon e subgleba ausente, porém, apresenta basidiósporos ovóides e bastante verrucosos, diferindo-a de *Bovista* sp. nov. 10.

4.7.24 *Bovista* sp. nov. 11

Figuras 16J–L, 18E

Holótipo: BRASIL, Rio Grande do Norte, Serra Negra do Norte, ESEC Seridó, col. J.J.S. Oliveira, E.P. Fazolino & B.D.B. Silva, 20/II/2007 (UFRN–Fungos 408)!

Basidioma imaturo subgloboso, 5–6 mm diam. × 4–6 mm alt., branco amarelado (KW 4A2). **Basidioma expandido** subgloboso, 5,5–20 mm diam. × 5–10 mm alt., rizomorfas esbranquiçadas, 2 mm diam. × 1,5–7 mm alt., com solo incrustado. **Exoperídio** não persistente, espinhoso a verrucoso, marrom acinzentado (KW 5F3–6F3) no ápice, tornando-se marrom amarelado a marrom (KW 5E5–6F4), conspícuo. **Endoperídio** papiráceo, bronze (KW 5E5), metálico, liso. **Gleba** cotonosa ou pulverulenta, marrom a marrom escuro (KW 5E6–5F6). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por duas camadas pseudoparenquimatosas, a mais interna com células subglobosas, alongadas, lanceoladas, e irregulares, 12,8–22,2(–28,7) × 7,4–15 µm, parede < 1,5 µm, hialinos a amarelados em KOH, presença de micoesclereídeos, a mais externa composta por esferocistos em cadeia, globosos a subglobosos, clavadas e piriformes, 10,6–24,6(–33,5) × 7,5–20,3 µm, parede < 2,5 µm, hialinos a castanhos em KOH. **Endoperídio** filamentoso, 2,2–4,7 µm diam., parede < 1,5 µm, ramificado, septado, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon, 2,6–4,4 µm diam., parede < 1,5 µm, subelástico a elástico, ramificações subseptais frequentes, ramificações anfileptais raras, septos verdadeiros frequentes, septos falsos ausentes, poros frequentes, amarelado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiósporos** globosos, 3,8–4,5 × 4–4,6 µm [$Q_m = 1,03$; $x = 4,2 \pm 0,2$; $x = 4,3 \pm 0,2$; $n=30$], verruculosos, com pedicelos curtos, 1–1,5 µm, retos.

Substrato: Solo arenoso a pedregoso.

Material examinado: BRASIL, Rio Grande do Norte, Serra Negra do Norte, ESEC Seridó, col. T.B.S. Ottoni & M.M.B. Barbosa, 22/V/2008 (UFRN-Fungos 711); idem, col. E.P. Fazolino & T.B.S. Ottoni, 02/V/2009 (UFRN-Fungos 1206); PARAÍBA, Santa Terezinha, RPPN Fazenda Tamanduá, col. E.P. Fazolino, 23/III/2008 (UFRN-Fungos 486).

Comentários: *Bovista* sp. nov. 11 apresenta exoperídio verrucoso, capilício tipo-lycoperdon com poros frequentes, basidiósporos verruculosos e subgleba ausente. Essas características são encontradas em *B. delicata*, no entanto, o endoperídio areolado, o exostrato hifálico e o capilício mais robusto (até 8 µm diam.) permitiram separar essas espécies. Diferencia-se de *B. gunnii* pelos basidiósporos subglobosos e pedicelados (até 11 µm) e de *B. glacialis* pelo exostrato com presença de hifas quebradiças (Kreisel, 1967). *Bovista grandipora* é caracterizada pelo tamanho e frequência dos poros, no entanto, pode se diferenciar de *Bovista* sp. nov. 11 pelo

exoperídio furfuráceo e pela ausência de septos no capilício (Trierveiler-Pereira *et al.*, 2010). O exoperídio granuloso, os basidiósporos verruculosos e subgleba ausente são características visualizadas em *B. sclerocystis*, porém, o capilício tipo-intermediário sem poros e a presença de pseudoestipe separam-na de *Bovista* sp. nov. 11.

4.7.25 *Bovista* sp. nov. 12

Figuras 16M–O, 18F

Holótipo: BRASIL, Rio Grande do Norte, Serra Negra do Norte, ESEC Seridó, col. M.M.B. Barbosa, B.D.B. Silva, A.G. Leite, A.G. & P.P.T. Lacerda 01/IV/2006 (UFRN-Fungos 506)!

Basidioma imaturo subgloboso, 6–13 mm diam. × 5–10 mm alt., branco amarelado (KW 4A2). **Basidioma expandido** subgloboso, 8–18 mm diam. × 7–15 mm alt, rizomorfes esbranquiçadas, 5–23 mm alt., com detritos de solo. **Exoperídio** não persistente, espinhoso a verrucoso, branco amarelado (KW 4A2). **Endoperídio** papiráceo, marrom amarelado a laranja amarronzado (KW 4D5–5C5), liso. **Gleba** cotonosa ou pulverulenta, marrom amarelado (KW 5E5). **Subgleba** ausente.

Exoperídio composto por duas camadas, a mais interna com hifas quebradiças, tortuosas, irregulares, 3,4–5,7 µm, parede ≤ 1 µm, hialinas em KOH, a mais externa composta por esferocistos em cadeia, subglobosos, obovados e irregulares, 9,2–23,1 × 8–12,7 µm, parede ≤ 1 µm, hialinos a amarelados em KOH, presença de micoesclereídeos. **Endoperídio** filamentosos, 2–4,2 µm diam., parede ≤ 1 µm, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon por toda a gleba, 3,1–6,7 µm diam., parede ≤ 1 µm, subelástico a elástico, ramificações ausentes, septos verdadeiros e falsos ausentes, poros frequentes, castanho em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiósporos** globosos, 3,9–4,9 × 4–5,1 µm [$Q_m = 1,03$; $x = 4,4 \pm 0,2$; $x = 4,5 \pm 0,2$; $n=30$], sublisos a verruculosos, pedicelos curtos, 0,6–1,5 µm, retos, hialinos em KOH.

Substrato: Solo pedregoso, pouco sombreado.

Material examinado: BRASIL, Rio Grande do Norte, Serra Negra do Norte, ESEC Seridó, col. T.B.S. Ottoni, B.D.B. Silva & E.P. Fazolino, 03/II/2008 (UFRN-Fungos 740); Idem, col. B.D.B. Silva, M.I.M. Concentino, J.J.S. Oliveira, R.H.S.F. Cruz & E.P. Fazolino, 21/II/2009 (UFRN-Fungos 1189); idem, col. E.P. Fazolino, 10/IV/2009 (UFRN-Fungos 1023).

Comentários: *Bovista* sp. nov. 12 possui um exoperídio espinhoso a verrucoso, capilício tipo-lycoperdon com poros e basidiósporos globosos, com ornamentação

sublisa a verruculosa. Difere de *B. aspera* pela presença de subgleba compacta, basidiósporos subglobosos e pedicelados (até 15 μm) e capilício mais robusto (até 9 μm) nesta última. *Bovista* sp. nov. 12 e *B. citrina* (Berk. & Broome) Bottomley apresentam exoestrato hifálico e pseudoparenquimatoso, contudo, esta possui subgleba compacta, capilício heteromórfico (tipo-intermediário no centro da gleba) e basidiósporos subglobosos e pedicelados (até 17 μm). Assim como *Bovista* sp. nov. 12, *Bovista ochrotrica* Kreisel possui exoperídio verrucoso, capilício tipo-lycoperdon com poros e subgleba ausente, porém, esta última apresenta basidiósporos menores (até 3,5 μm), exoestrato somente hifálico, endoperídio com abertura cônica. A presença de micoesclereídeos no exoperídio também é uma característica de *B. sclerocystis*, mas o capilício tipo-intermediário e o pseudoestipe diferenciam essas duas espécies.

4.7.26 *Bovista* cf. *aestivalis*

Basidioma imaturo ausente. **Basidioma expandido** subgloboso, 22 mm diam. $\times$ 19 mm alt., rizomorfias não visualizadas. **Exoperídio** não visualizado. **Endoperídio** papiráceo, marrom amarelado (KW 5D5), liso. **Gleba** cotonosa, marrom escuro (KW 6F4). **Subgleba** reduzida, 0,8 mm alt., castanho (KW 5E3), compacta.

Exoperídio composto por duas camadas, a mais interna com hifas quebradiças, tortuosas, irregulares, 2,6–3,9 μm , parede $< 1 \mu\text{m}$, hialinas em KOH, e a mais externa não visualizada. **Endoperídio** filamentoso, 2,2–4,7 μm diam., parede $\leq 1 \mu\text{m}$, elástico, septos falsos presentes, hialino em KOH. **Eucapilício** tipo-lycoperdon em toda a gleba, 3,4–5,8 μm diam., parede $< 1,5 \mu\text{m}$, elástico, ramificações ausentes, septos verdadeiros raros, septos falsos ausentes, poros presentes, amorronzado em KOH, ausência de reação em Melzer e em azul de algodão. **Paracapilício** ausente. **Basidiosporos** globosos, 4,2–5,1 $\times$ 4,4–5,4 μm [$Q_m = 1,04$; $x = 4,7 \pm 0,2$; $x = 4,9 \pm 0,2$; $n=30$], verruculosos, pedicelos curtos, 1–1,5 μm , retos.

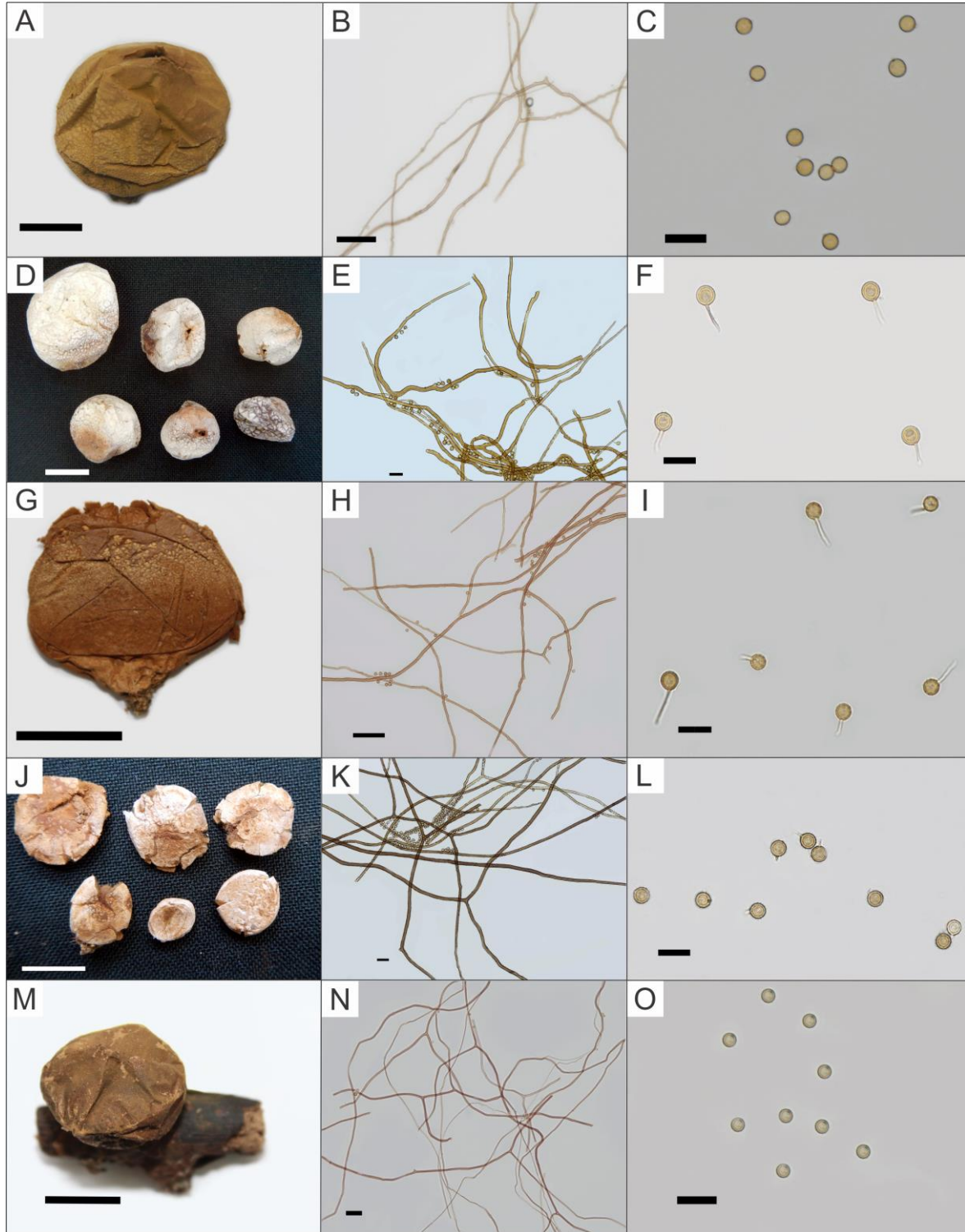
Substrato: Em solo árido sobre *Pinus radiata*.

Material examinado: ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, Califórnia, Berkeley, col. E. Morse, 28/VII/1934 (NY65017, como *B. sempervetinum*).

Comentários: Nas análises moleculares, *Bovista* cf. *aestivalis* aparece agrupada às espécies sob o nome de *B. aestivalis*, entretanto, sua morfologia não se refere a essa espécie. *Bovista aestivalis* é caracterizada por capilício do tipo-intermediário no

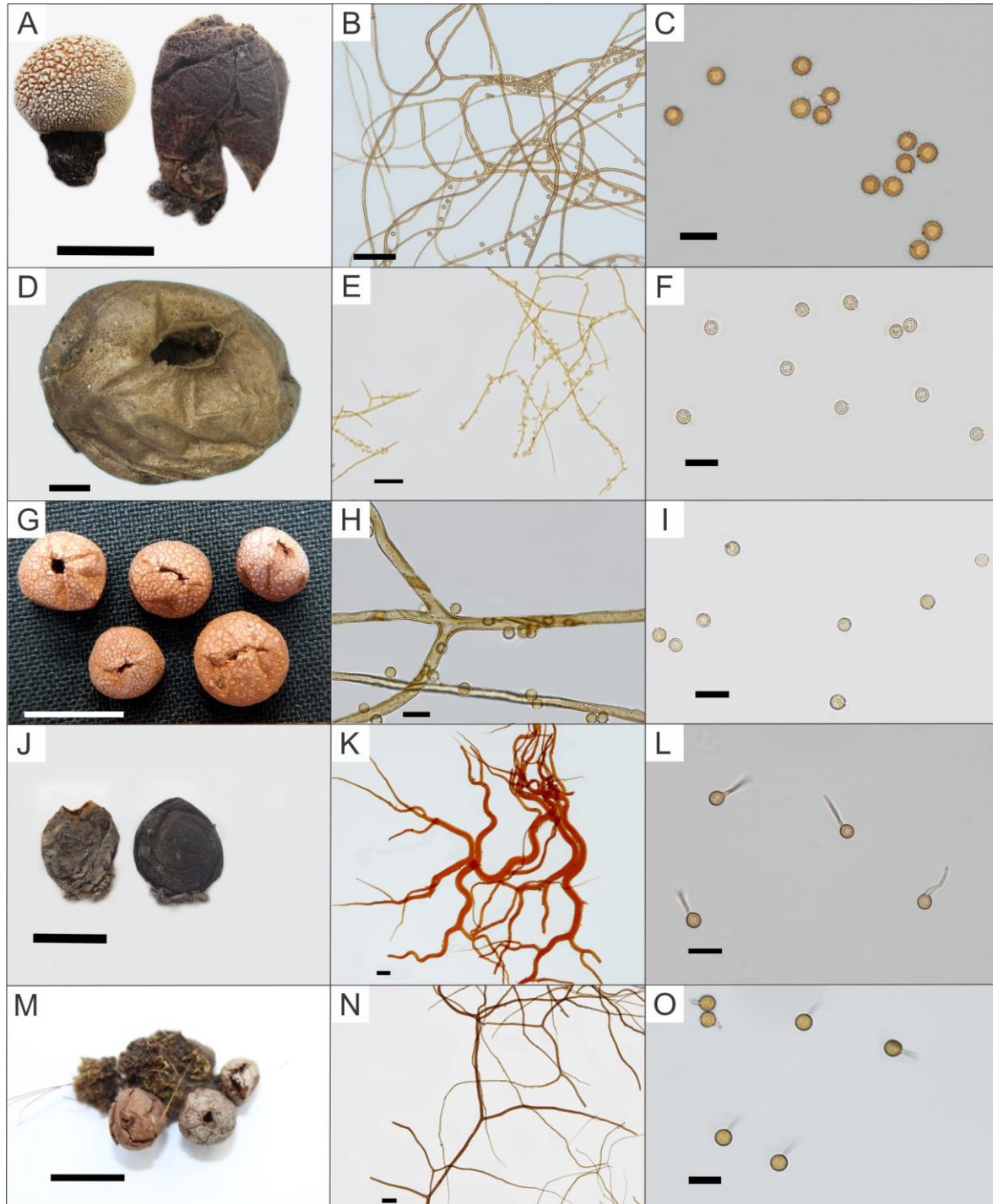
centro da gleba com poros frequentes, basidiósporos globosos a ovoides e subgleba compacta. Contudo, *Bovista* cf. *aestivalis* apresenta capilício tipo-lycoperdon por toda a gleba e subgleba ausente. Essa espécie apresenta também similaridade com *B. cunninghamii*, embora não apresente capilício tipo-intermediário. *Bovista delicata* é semelhante a *Bovista* cf. *aestivalis*, com ambas apresentando capilício tipo-lycoperdon com poros e exoestrato hifálico, todavia, os basidiósporos de *B. delicata* são pedicelados (3–36 μm). A coleção NY65017, embora em sua etiqueta do herbário indique, não corresponde a *B. semperventinum*, uma vez que esta última espécie possui capilício tipo-intermediário.

Figura 12 – Espécies de *Bovista* incluídas no tratamento taxonômico. A–C: *Bovista aestivalis* BPI844732 (holótipo de *B. dakotensis*). D–F: *Bovista albosquamosa* M222086 (holótipo). G–I: *Bovista aspera* NY0065850 (isolectótipo). J–L: *Bovista californica* M222085 (isótipo). M–O: *Bovista dryina* NY475296. A, D, F, J, M: Basidiomas; B, E, H, K, N: Capilícios; C, F, I, L, P: Basidiósporos. Barras: A, D, J, G, M= 10 mm; B, E, H, K, N= 50 μ m; C, F, I, L, P= 10 μ m.



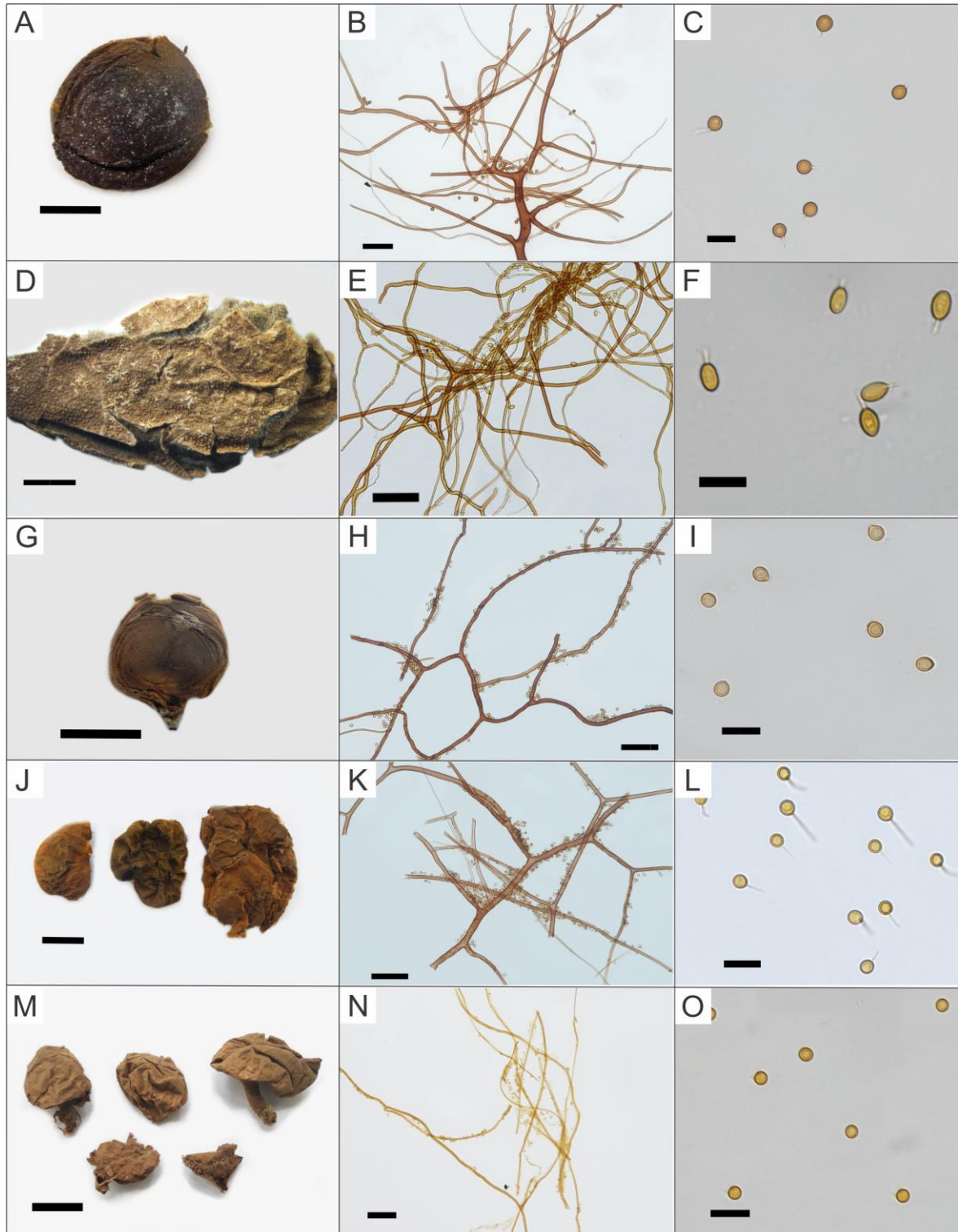
Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2019).

Figura 13 – Espécies de *Bovista* incluídas no tratamento taxonômico. A–C: *Bovista glacialis* M222080 (lectótipo). D–F: *Bovista grandipora* URM80067 (holótipo). G–I: *Bovista halophila* WU20607 (holótipo). J–L: *Bovista hollosii* M222095. M–O: *Bovista limosa* NY1771758. A, D, F, J, M: Basidiomas; B, E, H, K, N: Capilícios; C, F, I, L, P: Basidiósporos. Barras: A, D, J, G, M= 10 mm; B, E, H, K, N= 50 μ m; C, F, I, L, P= 10 μ m.



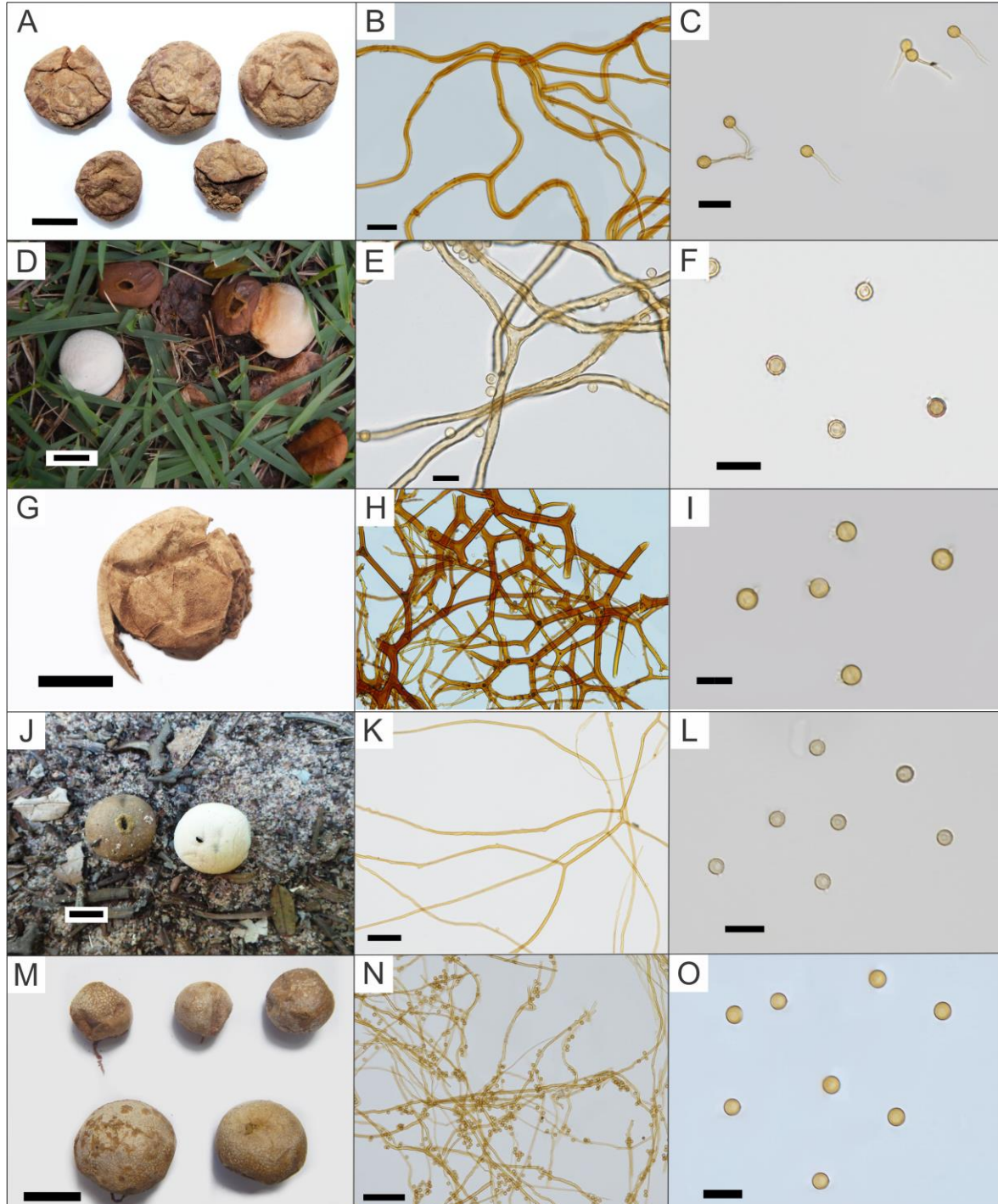
Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2019).

Figura 14 – Espécies de *Bovista* incluídas no tratamento taxonômico. A–C: *Bovista nigrescens* M222094. D–F: *Bovista oblongispora* BPI706920 (holótipo). G–I: *Bovista pusilliformis* M222078 (isótipo). J–L: *Bovista reunionis* WU23995 (isótipo). M–O: *Bovista sclerocystis* XAL 823 (holótipo). A, D, F, J, M: Basidiomas; B, E, H, K, N: Capilícios; C, F, I, L, P: Basidiósporos. Barras: A, D, J, G, M= 10 mm; B, E, H, K, N= 50 μ m; C, F, I, L, P= 10 μ m.



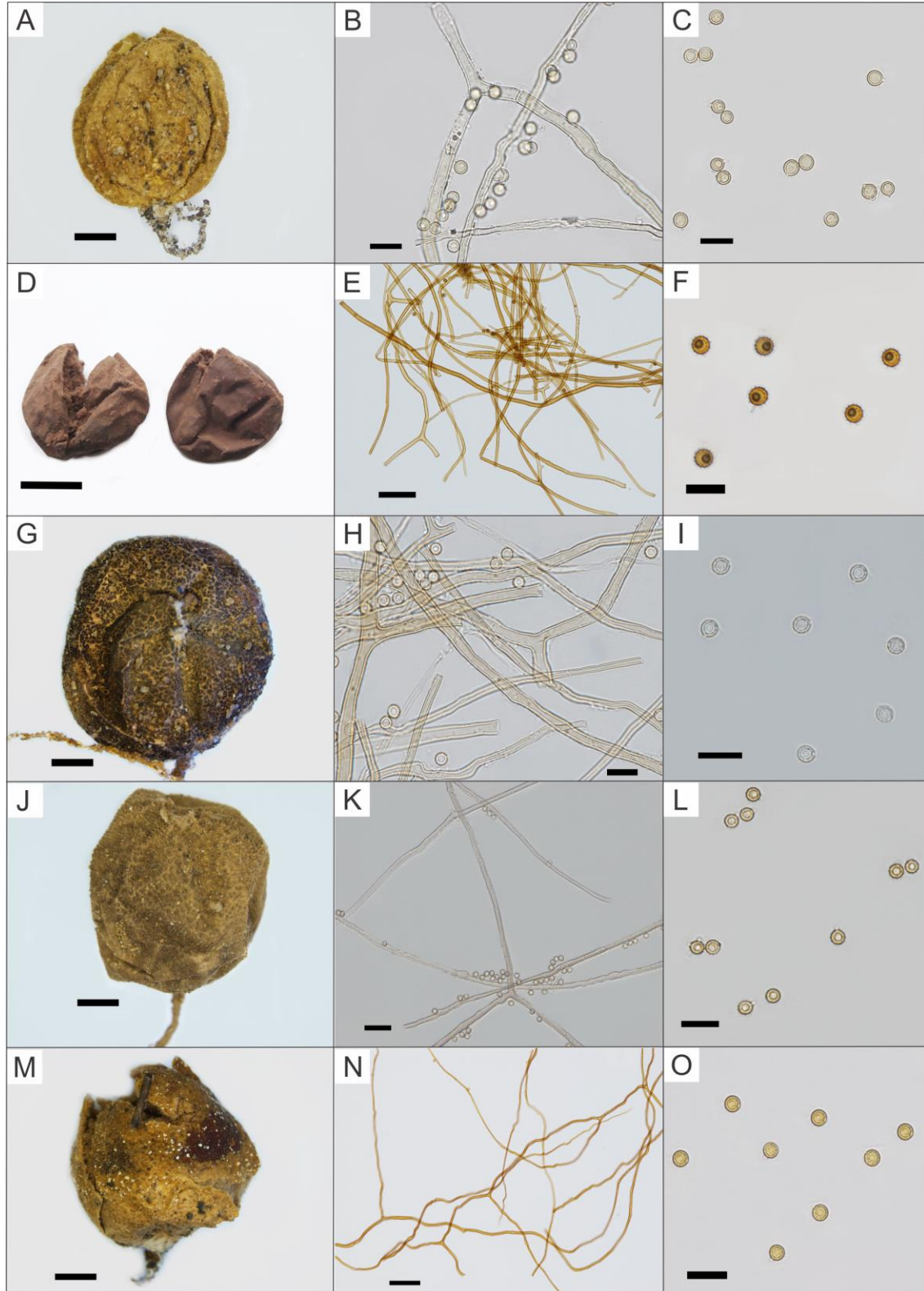
Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2019).

Figura 15 – Espécies de *Bovista* incluídas no tratamento taxonômico. A–C: *Bovista tomentosa* NY00065850 (isótipo de *B. minor*). D–F: *Bovista* sp. nov. 4 UFRN-Fungos 818 (holótipo). G–I: *Bovista* sp. nov. 5 UFRN-Fungos 2609 (holótipo). J–L: *Bovista* sp. nov. 6 UFRN-Fungos 2861 (holótipo). M–O: *Bovista* sp. nov. 7 UFRN-Fungos 1174 (holótipo). A, D, F, J, M: Basidiomas; B, E, H, K, N: Capilícios; C, F, I, L, P: Basidiósporos. Barras: A, D, J, G, M= 10 mm; B, E, H, K, N= 50 μ m; C, F, I, L, P= 10 μ m.



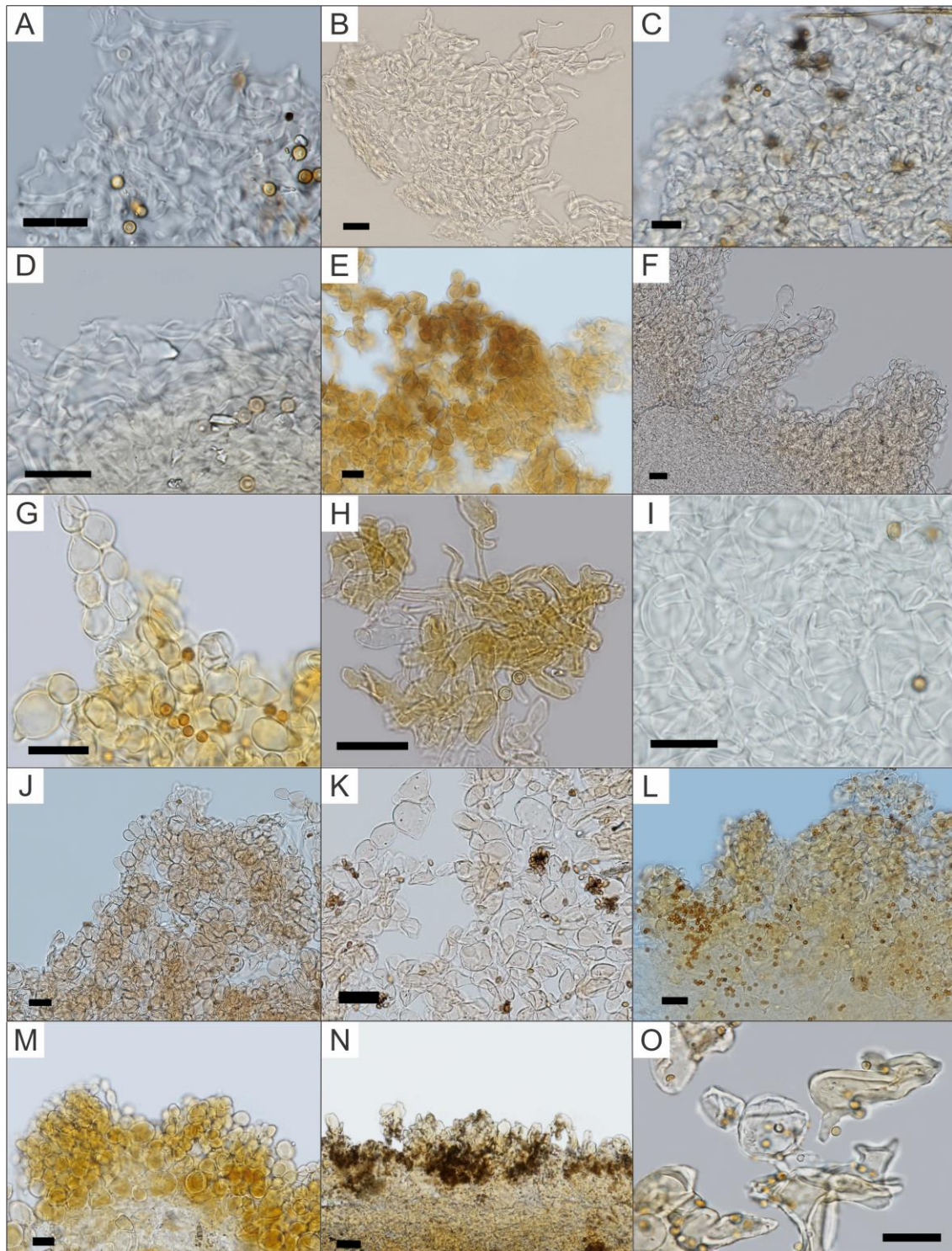
Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2019).

Figura 16 – Espécies de *Bovista* incluídas no tratamento taxonômico. A–C: *Bovista* sp. nov. 8 UFRN-Fungos 1036 (holótipo). D–F: *Bovista* sp. nov. 9 UFRN-Fungos 1283 (holótipo). G–I: *Bovista* sp. nov. 10 UFRN-Fungos 776 (holótipo). J–L: *Bovista* sp. nov. 11 UFRN-Fungos 408 (holótipo). M–O: *Bovista* sp. nov. 12 UFRN-Fungos 506 (holótipo). A, D, F, J, M: Basidiomas; B, E, H, K, N: Capilícios; C, F, I, L, P: Basidiósporos. Barras: A, D, J, G, M= 10 mm; B, E, H, K, N= 50 μ m; C, F, I, L, P= 10 μ m.



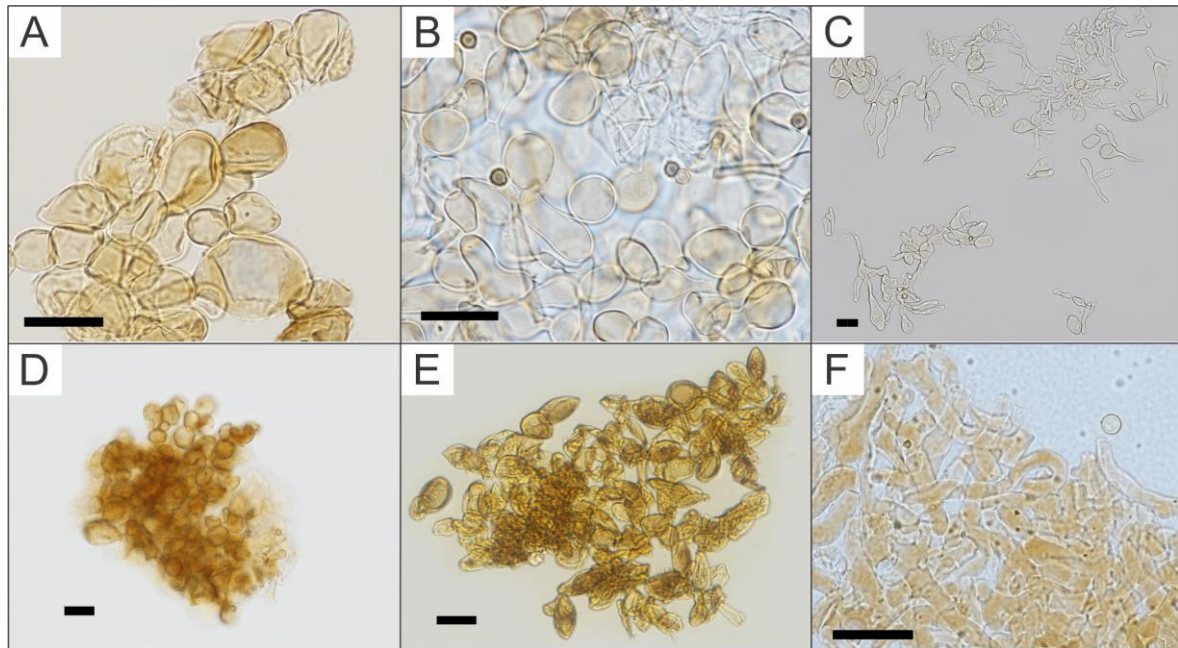
Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2019).

Figura 17 – Estruturas do exoperídio das espécies de *Bovista* incluídas no tratamento taxonômico. A: *B. aestivalis*. B: *B. albosquamosa*. C: *B. aspera*. D: *B. californica*. E: *B. dryina*. F: *B. glacialis*. G: *B. grandipora*. H: *B. halophila*. I: *B. limosa*. J: *B. nigrescens*. K: *B. oblongispora*. L: *B. pusilliformis*. M: *B. reunionis*. N, O: *B. sclerocistys*. Escala: 20 µm



Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2019).

Figura 18 – Estruturas do exoperídio das espécies de *Bovista* incluídas no tratamento taxonômico. A: *Bovista* sp. nov. 4. B: *Bovista* sp. nov. 6. C: *Bovista* sp. nov. 8. D: *Bovista* sp. nov. 10. E: *Bovista* sp. nov. 11. F: *Bovista* sp. nov. 12. Escala: 20 μ m



Fonte: Ana C.M. Rodrigues (2019).

5 CONCLUSÕES

- A taxonomia integrativa, envolvendo estudos morfológicos e moleculares, permitiu maiores avanços na identificação de espécies de *Bovista*, revelando a real diversidade do gênero;
- As regiões ITS e LSU auxiliam na construção das relações filogenéticas de *Bovista* e gêneros associados, mas não são suficientes para determinar posições filogenéticas de algumas espécies, sendo necessários a inclusão de mais espécies e mais marcadores moleculares;
- A região neotropical revelou uma maior diversidade de espécies de *Bovista* do até agora considerado, corroborando a hipótese 2 desse trabalho;
- As características do perídio (exostrato), o tipo de capilício e sua estrutura, além do tamanho e ornamentação dos basidiósporos constituem caracteres informativos para as espécies de *Bovista*.

REFERÊNCIAS

- ALFREDO, D.S., BASEIA, I.G., ACCIOLY, T., SILVA, B.D.B., MOURA, M.P., MARINHO, P., MARTÍN, M.P. Revision of species previously reported from Brazil under *Morganella*. **Mycol Progress** 16: 965–985, 2017.
- ALFREDO, D.S., SOUSA, J.O., SOUZA, E.J., CONRADO, L., BASEIA, I.G. Novelty of gasteroid fungi, earthstars and puffballs, from the Brazilian Atlantic rainforest. **An Jard Bot Madrid**. 73. e045, 2016.
- ALTSCHUL, S.F., MADDEN, T.L., SCHÄFFER, A.A., ZHANG, J., ZHANG, Z., MILLER, W., LIPMAN, D.J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Res** 25: 3389–3402, 1997.
- ALVES, C.S., CORTEZ, V.G. Gasteroid Agaricomycetidae (Basidiomycota) from Parque Estadual São Camilo, Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Biociências** 12(1): 27–41, 2013.
- AVERNA-SACCÁ, R. Os gasteromycetes mais comuns nas hortas, nos pomares e nos campos. **Bol. Agric.** 23: 306–318, 1923.
- BAS, C. Morphology and subdivision of *Amanita* and a monograph of its section *Lepidella*. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi** 5(4) 285–573, 1969.
- BASEIA, I.G. Some notes on the genera *Bovista* and *Lycoperdon* (Lycoperdaceae) in Brazil. **Mycotaxon** 91: 81–86, 2005a.
- BASEIA, I.G. *Bovista* (Lycoperdaceae): dois novos registros para o Brasil. **Acta Bot. Brasil.** 19: 901–905, 2005b.
- BASEIA, I.G., SILVA, B.D.B., ISHIKAWA, N.K., SOARES, J.V.C., FRANÇA, I.F., USHIJIMA, S., MAEKAWA, N., MARTÍN, M.P. Discovery or extinction of new *Scleroderma* species in Amazonia? **PLoS ONE** 11(12): e0167879, 2016.
- BATES, S.T., ROBERSON, R.W., DESJARDIN, D.E. Arizona gasteroid fungi I: Lycoperdaceae (Agaricales, Basidiomycota). **Fungal Divers** 37: 153–207, 2009.
- BAUTISTA-HERNÁNDEZ, S., HERRERA, T., AGUIRRE-ACOSTA, E., ESQUEDA, M. Contribution to the taxonomy of *Bovista* in Mexico. **Mycotaxon** 118: 27–46, 2011.
- BEGEROW, D., NILSSON, H., UNTERSEHER, M., MAIER, W. Current state and perspectives of fungal DNA barcoding and rapid identification procedures. **Appl Microbiol Biotechnol** 87: 99–108, 2010.
- BLACKWELL, M. The Fungi: 1, 2, 3 ... 5,1 million species? **Am J Bot** 98(3): 426–438, 2011.
- BONORDEN, H.F. Die Gattugen *Lycoperdon*, *Bovista* und ihr Bau. **Bot. Zeitung** 15: 593–602, 1857.
- BROOKE, M.L. Why museums matter. **Trends Ecol Evol** 15: 136–137, 2000.

- BRUNS, T.D., FOGEL, R., WHITE, T.J., PALMER, J. Accelerated evolution of false-truffle from a mushroom ancestor. **Nature** 339: 140–142, 1989.
- BRUNS, T.D., WHITE, T.J., TAYLOR, J.W. Fungal Molecular Systematics. *Annu Rev Ecol Syst* 22: 525–564, 1991.
- CALONGE, F.D. El género *Bovista* Pers.:Pers. (Gasteromycetes) en la Península Ibérica e Islas Baleares. **Bol. Soc. Micol. Madr.** 17: 101–113, 1992.
- CALONGE, F.D., DEMOULIN, V. Les Gastéromycètes d'Espagne. **Bull Trimest Soc Mycol Fr** 91:247–292, 1975.
- CALONGE, F.D., KRESEIL, H., GUZMÁN, G. *Bovista sclerocystis*, a new species from Mexico. **Mycologia** 96(5): 1152–1154, 2004.
- COCHRANE, G., KARSCH-MIZRACHI, I., NAKAMURA, Y. The International Nucleotide Sequence Database Collaboration. **Nucleic Acids Res** 39: D15–18, 2011.
- COETZEE, J.C, VAN WIK, A.E. Lycoperdaceae–Gasteromycetes: the identity of *Lycoperdon complanatum* Desf. and its nomenclatural implication. **Bothalia** 35(1): 76–78, 2005.
- COKER, W.C., COUCH, J.N. **The Gasteromycetes of Eastern United States and Canada**. Mblwhoi Library, 283 pp., 1928.
- CUNNINGHAM, C.H. The Gasteromycetes of Australasia. III. The genera *Bovista* and *Bovistella*. **P Linn Soc N S W** 50: 367–373, 1925.
- CUNNINGHAM, C.H. **The Gasteromycetes of Australia and New Zealand**. Dunedin: J. Mcinhoe, 1944.
- DE BARY, A. **Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten**. Leipzig, 1866.
- DE MEIJER, A.A.R. Preliminary list of the macromycetes from the Brazilian State of Paraná. **Bol. Mus. Bot. Munic.** 68: 1–55, 2006.
- DEMOULIN, V. La typification des *Lycoperdon* décrits par Persoon. **Lejeunia** 55: 1–20, 1970.
- DEMOULIN, V. Espèces nouvelles ou méconnues du genre *Lycoperdon* (Gastéromycètes). **Lejeunia Nouvelle Série** 62: 1–28, 1972.
- DEMOULIN, V. The typification of *Lycoperdon* described by Peck and Morgan. **Beihefte zur Sydowia** 8: 139–151, 1979.
- DENTINGER, B.T.M., DIDUKH, M.Y., MONCALVO, J.M. Comparing COI and ITS as DNA barcode markers for mushrooms and allies (Agaricomycotina). **PLoS ONE** 6, e25081, 2011.

DILLENIIUS, J.J. **Catalogus Plantarum Sponte Circa Gissam Nascentium**. Francofurti, 1719.

DOMÍNGUEZ-TOLEDO, L.S. Gasteromycetes (Eumycota) del centro y oeste de la Argentina. I. Análisis crítico de los caracteres taxonómicos, clave de los géneros y orden Podaxales. **Darwiniana** 32(1–4): 195–235, 1993.

DRING, D.M. Gasteromycetes. In: Ainsworth, G.C., Sparrow, F.K., Sussman, A.S. (eds.) **The Fungi – an advanced treatise**, vol. IVB. Academic Press, London, 1973.

FISCHER, E. 1900. Plectobasidiineae. In: Engler, A., Prantl, K. (eds.) **Die Natürlichen Pflanzenfamilien**, Teil I, Abth 1++, Leipzig.

FISCHER, E. 1933. Reihe Gasteromyceteae. In: Engler, A., Prantl, K. (eds.) **Die Natürlichen Pflanzenfamilien**, 2. Aufl. Band 7a, Leipzig.

FREIRE, P. **Pedagogia do oprimido**. Rio de Janeiro: Paz e Terra, 17^a ed., 1987.

FRIES, E. M. **Systema Mycologicum**. III, 1, Gryphiwaldiae, 1821.

GARDES, M., BRUNS, T.D. ITS primers with the enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. **Mol Ecol** 2: 113–118, 1993.

GOUY, M., GUINDON S., GASCUEL, O. SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. **Mol Biol Evol** 27(2):221–224, 2010.

HEBERT, P.D., STOECKLE, M.Y., ZEMLAK, T.S., FRANCIS, C.M. Identification of birds through DNA barcodes. **PLoS Biology** 2: e312, 2004.

HESSE, R. Mikroskopische unterscheidungsmerkmale der typischen Lycoperdaceen genera. Pringsheims Jahrb. **Wiss. Bot.** 10: 383–398, 1876.

HIBBETT, D.S., BINDER, M., BISCHOFF, J.F., BLACKWELL, M., CANNON, P.F., ERIKSSON, O.E., HUHDORF, S., JAMES, T., KIRK, P.M., LUCKING, R., LUMBSCH, T., LUTZONI, F., MATHENY, P.B., MCLAUGHLIN, D.J., POWELL, M.J., REDHEAD, S., SCHOCH, C.L., SPATAFORA, J.W., STALPERS, J.A., VILGALYS, R., AIME, M.C., APTROOT, A., BAUER, R., BEGEROW, D., BENNY, G.L., CASTLEBURY, L.A., CROUS, P.W., CHENG, DAI. Y., GAMS, W., GEISER, D.M., GRIFFITH, G.W., GUEIDAN, C., HAWKSWORTH, D.L., HESTMARK, G., HOSAKA, K., HUMBER, R.A., HYDE, K., IRONSIDE, J.E., KÖLJALG, U., KURTZMAN, C.P., HENRIK-LARSSON, K., LICHTWARDT, R., LONGCORE, J., MIADLIKOWSKA, J., MILLER, A., MONCALVO, J.M., MOZLEY-STANDRIDGE, S., OBERWINKLER, F., PARMASTO, E., REEB, V., ROGERS, J.D., ROUX, C., RYVARDEN, L., SAMPAIO, J.P., SCHÜSSLER, A., SUGIYAMA, J., THORN, R.G., TIBELL, L., UNTEREINER, W.A., WALKER, C., WANG, Z., WEIR, A., WEISS, M., WHITE, M.M., WINKA, K., JIAN, Y.Y., ZHANG, N. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycol Res** 111: 509–547, 2007.

HIBBETT, D.S., OHMANA, A., GLOTZERA, D., NUHNA, M., KIRK, P., NILSSON, R.H. Progress in molecular and morphological taxon discovery in Fungi and options

for formal classification of environmental sequences. **Fungal Biol Rev** 25: 38–47, 2011.

HIBBETT, D.S., PINE, E.M., LANGER, E., LANGER, G., DONOGHUE, M.J. Evolution of gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. **P Natl Acad Sci USA** 94: 12002–12006, 1997.

HIBBETT, D.S., THORN, R.G. Basidiomycota: Homobasidiomycetes. In: McLaughlin, D.J., McLaughlin, E.G., Lemke, P.A. (eds.) *The Mycota. Systematics and Evolution*, vol. 7. Part B. Springer-Verlag, New York, pp. 121–168, 2001.

HÓLLOS, L. **Die Gasteromyceten Ungarns**, Leipzig, 1904.

HOMRICH, M.H. Etude De Quelques Gasteromycetes Du Rio Grande Do Sul. *Rev Mycol* 34: 3–16, 1969.

HUELSENBECK, J.P., RONQUIST, F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. **Bioinformatics** 17: 754–755, 2001.

JEPPSON, M. *Bovista aestivalis* (Lycoperdaceae) a survey of its occurrence in North Europe. **Windahlia** 24: 49–61, 2001.

JEPPSON, M., FINY, P., LARSSON, E. *Bovista hollosii* – a new puffball (Lycoperdaceae) from sand steppe vegetation in Hungary. **Phytotaxa** 268 (2): 145–157, 2016.

KIRK, P.M., CANNON, P.F., MINTER, D.W., STALPERS, J.A. **Dictionary of the Fungi**. 10th edition. Wallingford, CABI International, 2008.

KÖLJALG, U., NILSSON, R.H., ABARENKOV, K., et al. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of Fungi. **Mol. Ecol.** 22: 5271–5277, 2013.

KORNERUP, A., WANSCHER, J.H. **Methuen Handbook of Colours**. 3rd edition. London, Eyre Methuen, 1978.

KREISEL, H. Die Lycoperdaceae der DDR. **Bibl Mycol**: 36. Reprint, J. Cramer, Lehre, 1962.

KREISEL, H. Vorläufige Übersicht der Gattung *Bovista* Dill. ex Pers. **Feddes Repertorium** 69: 131–142, 1964.

KREISEL, H. Taxonomisch-Pflanzengeographische Monographie der Gattung *Bovista*. **Beih. Nova Hedwigia** 25, 1967.

KREISEL, H. Gasteromyzeten aus Nepal II. **Feddes Repertorium** 87(1–2): 83–107, 1976.

KREISEL, H., CALONGE, F.D. *Bovista septina* (C.G. Lloyd) Kreisel & Calonge comb. nov. **Bol. Soc. Micol Madrid** 21: 393–394, 1996.

KREISEL, H., HAUSKNECHT, A. The gasteral Basidiomycetes of Mascarenes and Seychelles. **Österr. Z. Pilzk** 11: 196–211, 2002.

KREISEL, H., HAUSKNECHT, A. The gasteral Basidiomycetes of Mascarenes and Seychelles 2. **Österr. Z. Pilzk** 15: 137–142, 2006.

KRESIEL, H. Die Lycoperdaceae der DDR mit Nachträgen 1962–1971 des Verfassers. **Bibliotheca Mycologica**, 36: 213–313, 1973.

KRÜGER, D., BINDER, M., FISCHER, M., KREISEL, H. 2001. The Lycoperdales. A molecular approach to the systematics of some gasteroid mushrooms. **Mycologia** 93: 947–957.

KRÜGER, D., GARGAS, A. Secondary structure of ITS2 rRNA provides taxonomic characters for systematic studies – a case in Lycoperdaceae (Basidiomycota). **Mycol Res** 112, 316–330, 2008.

LANGE, M. Artic Gasteromycetes. The genus *Bovista* in Greenland and Svalbard. In: Laursen, G.A., Ammirati, J.F., Redhead, S.A. (eds.) Arctic Alpine Mycol II. Plenum Press, New York, pp. 261–271, 1987.

LARSSON, E. & JEPPSON, M. Phylogenetic relationships among species and genera of Lycoperdaceae based on ITS and LSU sequence data from north European taxa. **Mycol Res** 112: 4–22, 2008.

LARSSON, E., JEPPSON, M., LARSSON, K.H. Taxonomy, ecology, and phylogenetic relationships of *Bovista pusilla* and *B. limosa* in North Europe. **Mycol Prog** 8: 289–299, 2009.

LEBEL, T., PENNYCOOK, S., BARRETT, M. Two new species of *Pisolithus* (Sclerodermataceae) from Australasia, and an assessment of the confused nomenclature of *P. tinctorius*. **Phytotaxa** 348(3): 163–186, 2018.

LLOYD, C.G. The *Bovistae*. **Mycological Notes** 12: 113–120, 1902.

LLOYD, C.G. The genus *Bovistella*. **Mycol Notes Lloyd Libr Mus** 23: 277–287, 1906.

LUTZONI, F., KAUFF, F., COX, C.J., MCLAUGHLIN, D., CELIO, G., DENTINGER, B., PADAMSEE, M., HIBBETT, D., JAMES, T.Y., BALOCH, E., GRUBE, M., REEB, V., HOFSTETTER, V., SCHOCH, C., ARNOLD, A.E., MIADLIKOWSKA, J., SPATAFORA, J., JOHNSON, D., HAMBLETON, S., CROCKETT, M., SHOEMAKER, R., SUNG, G.H., LÜCKING, R., LUMBSCH, T., O'DONNELL, K., BINDER, M., DIEDERICH, P., ERTZ, D., GUEIDAN, C., HANSEN, K., HARRIS, R.C., HOSAKA, K., LIM, Y.W., MATHENY, B., NISHIDA, H., PFISTER, D., ROGERS, J., ROSSMAN, A., SCHMITT, I., SIPMAN, H., STONE, J., SUGIYAMA, J., YAHR, R., VILGALYS, R. Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits. **Am J Bot** 91(10): 1446–1480, 2004.

MARTÍN, M.P., WINKA, K. Alternative methods of extracting and amplifying DNA from lichens. **Lichenologist** 32: 189–196, 2000.

MASSEE, G. A revision of the genus *Bovista*. **Journ. Bot. Lond.** 26: 129–137, 1888.

- MATHENY, P.B., CURTIS, J.M., HOFSTETTER, V., AIME, M.C., et al. The major clades of Agaricales: a multilocus phylogenetic overview. **Mycologia** 98(6) 982–995, 2006.
- MCNEILL J, BARRIE FR, BUCK WR, DEMOULIN V, GREUTER W, HAWKSWORTH DL, HERENDEEN PS, KNAPP S, MARHOLD K, PRADO J, PRUD'HOMME VAN REINE WF, SMITHGF, WIERSEMA JH, TURLAND NJ (eds.). **International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code)**: Adopted by the Eighteenth International Botanical Congress Melbourne, Australia, July 2011. Regnum Vegetabile 154. Königstein: Koeltz Scientific Books, 2012.
- MILLER, JR. O.K., MILLER, H.H. **Gasteromycetes: morphology and developmental features**. Eureka, Mad River, 1988.
- MONCALVO, J.M., VILGALYS, R., REDHEAD, S.A., JOHNSON, J.E., JAMES, T.Y., et al. One hundred and seventeen clades of euagarics. **Mol Phylogenet Evol**, 23: 357–400, 2002.
- MORGAN, A.P. North American Fungi. The Gastromycetes. **Cincinnati Society of Natural History** 13: 141–146, 1892.
- MOYERSON, B., DEMOULIN, V. Les Gastéromycètes de Corse: taxonomie, écologie, chorologie. **Lejeunia** 152: 1–130, 1996.
- NYLANDER, J. A. A. **MrModelTest v2**. Program distributed by the editor. Evolutionary Biology Centre, Uppsala Universit, 2004.
- ORTEGA, A., BUENDÍA, G.A. Estudio de algunas especies con esporas oblongas del genero *Bovista* Pers. **Cryptogam Mycol** 6: 281–288, 1985.
- ORTEGA, A., BUENDÍA, G.A. Estudio del complejo *Bovista aestivalis* (Bon.) Demoulin *B. pusilla* (Batsch) Pers. *sensu* Kreisel en España. **Cryptogam Mycol** 10: 9–18, 1989.
- PERDECK, A.C. Revision of the Lycoperdaceae of the Netherlands. **Blumea** 6: 480–516, 1950.
- PERSOON, C.H. Tentamen dispositionis methodicae fungorum. *In*: Roemer, J.J. (eds.) *Neus Mag. Bot.* 1: 81–128, 1794.
- PERSOON, C.H. **Observationes mycologicae**. 1: 1–116, 1796.
- PERSOON, C.H. **Synopsis methodica fungorum**. Gottingae, 1801.
- PHOSRI, C., MARTÍN, M.P., WATLING, R. *Astraeus*: hidden dimensions. **IMA Fungus** 4(2): 347–356, 2013.
- PUILLANDRE, N., BOUCHET, P., BOISSELIER-DUBAYLE, M.C., BRISSET, J., BUGÉ, B., CASTELIN, M., CHAGNOUX, S., CHRISTOPHE, T., CORBARI, L., LAMBOURDIÈRE, J., LOZOUET, P., MARANI, G., RIVASSEAU, A., SILVA, N., TERRY, Y., TILLIER, S., UTGE, J., SAMADI, S. New taxonomy and old collections:

integrating DNA barcoding into the collection curation process. **Mol Ecol Resour** 12: 396–402, 2012.

REBRIEV, I.A. The revision of the *Bovista* species described in «Flora Sporovykh Rasteniy Kazakhstana». **Mikologiya i Fitopatologiya** 46(3): 201–206, 2012.

REBRIEV, I.A., Dvadnenko, K.V. *Bovista helenae* – a new puffball from Russia. **Studies in Fungi** 1(1): 142–145, 2016.

REBRIEV, I.A., GORBUNOVA, I.A., DVADNENKO, K.V. New *Bovista* species from the Altai-Sayan region of Russia. **Mikol Fitopatol** 51(2): 75–77, 2017.

RICK, J. Basidiomycetes Eubasidii no Rio Grande do Sul, Brasilia. **Iheringia** 9: 451–480, 1961.

RODRIGUES, A.C.M., ALFREDO, D.S., BASEIA, I.G. Lycoperdaceae. In: Baseia, I.G, Silva, B.D.B, Cruz, R.H.S.F (eds.) Fungos gasteroides no semiárido do nordeste brasileiro. Print Mídia Editora, Feira de Santana, Bahia, pp. 57–69, 2014.

SCHOCH, C.L., ROBERTSE, B., ROBERT, V. et al. Finding needles in haystacks: linking scientific names, reference specimens and molecular data for Fungi. **Database** 2014: 1–21, 2014.

SCHOCH, C.L., SEIFERT, K.A., HUHDORF, S., ROBERT, V., SPOUGE, J.L., LEVESQUE, C.A., CHEN, W., FUNGAL BARCODING CONSORTIUM. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **PNAS** 109(16): 6241–6246, 2012.

SEIFERT, K.A. Progress towards DNA barcoding of fungi. **Mol Ecol Resour** 9: 83–89, 2009.

SHVARTSMAN, C.P., PHILIMONOVA, H.M. Flora Sporovykh Rasteniy Kazakhstana [Cryptogamic Flora of Kazakhstan], Gasteromitset. **Alma-Ata** 6: 122–127, 1970.

SILVA, B.D.B., BASEIA, I.G. New records of *Disciseda* (Agaricales, Fungi) in the semiarid regions of Northeast Brazil. **J Torrey Bot Soc**, 141(4): 353–362, 2014.

SILVA, B.D.B., SOUSA, J.O., BASEIA, I.G. Discovery of *Geastrum xerophilum* from the Neotropics. **Mycotaxon** 118: 355–359, 2011.

SINGER R. **The Agaricales in modern taxonomy**. 4th edition. Koeltz Scientific Books, Koenigstein, 1986.

STAMATAKIS, A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. **Bioinformatics** 30(9): 1312–1313, 2014.

SUAREZ, A.V., TSUTSUI, D. The value of museum collections for research and society. **BioScience** 54: 66–74, 2004.

SUÁREZ, V.L., WRIGHT, J.E. Three new Southamerican species of *Bovista*. **Mycotaxon** 50: 279–289, 1994.

SWOFFORD, D.L. *PAUP**: **Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and another methods)**. 4th version. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 2003.

SYDOW, H., SYDOW, P. Verzeichnis der von Herrn F. Noack in Brasilien gesammelten Pilze. **Annales Mycologici** 5: 348–363, 1907.

THIERS, H.D. The secotiid syndrome. **Mycologia** 76: 1–8, 1984.

THIERS, B. (continuously updated). **Index Herbariorum**. New York, New York Botanical Garden. Disponível em: <http://sciweb.nybg.org/science2/IndexHerbariorum.asp>. Acesso em: 14 jul. 2019.

TRIERVEILER-PEREIRA, L., BASEIA, I.G. A checklist of the Brazilian gasteroid fungi (Basidiomycota). **Mycotaxon** 108: 441–444, 2009.

Trierveiler-Pereira, L., Honaiser, L. P., Silveira, R. M. B. Diversity of gasteroid fungi (Agaricomycetes, Basidiomycota) from the Brazilian Pampa Biome. **Nova Hedwigia Band** 106(3–4): 305–324, 2018.

TRIERVEILER-PEREIRA, L., KREISEL, H., BASEIA, I.G. New data on puffballs (Agaricomycetes, Basidiomycota) from the Northeast Region of Brazil. **Mycotaxon** 111: 411–421, 2010.

VELLINGA, E.C. Genera in the family Agaricaceae: evidence from nrITS and nrLSU sequences. **Mycol. Res.** 108: 354–377, 2004.

VILGALYS, R., HESTER, M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. **J Bacteriol** 172(1): 4238–4246, 1990.

VILLERS, J.J.R., EICKER, A., VAN DER WESTHUIZEN, G.C.A. A new species of *Bovista* (Gasteromycetes) from South Africa. **S. -Afr. Tydskr. Plantk.** 55(2): 156–158, 1989.

VITTADINI, C. Monographia Lycoperdineorum. **Mem reale acad sci Torino**, ser 25: 145–237, 1843.

VIZZINI, A., ERCOLE, E. Detecting the phylogenetic position of *Bovista acuminata* (Agaricales, Basidiomycota) by an ITS-LSU combined analysis: the new genus *Bryoperdon* and revisitation of *Lycoperdon* subgen. *Apioperdon*. **Phytotaxa** 299(1): 77–86, 2017.

WEBSTER, J., WEBER, R.W.S. **Introduction to Fungi**. 3th edition, Cambridge: Cambridge University Press, 2007.

WHITE, T.J., BRUNS, T.D., LEE, S.B. & TAYLOR, J.W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315–322 *In*: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sininski, J.J. & White, T.J. (eds.) PCR protocol, a guide to methods and applications. Academic press, New York, 1990.

WHITFIELD, J.B. Destructive sampling and information management in molecular systematic research: an entomological perspective. *In*: Byers, S., Metsger, D. (eds.) *Managing the Modern Herbarium: An Interdisciplinary Approach*. Society for Preservation of Natural History Collections, New York and Royal Ontario Museum, Toronto, pp. 301–314, 1999.

WHITFIELD, J.B. Destructive sampling and information management in molecular systematic research: an entomological perspective. *In*: Byers, S. & Metsger, D. (eds.) *Managing the Modern Herbarium: An Interdisciplinary Approach*. Society for Preservation of Natural History Collections, New York and Royal Ontario Museum, Toronto, pp. 301–314, 1999.

WILSON, P.M., PETTICREW, M., CALNAN, M. W., NAZARETH, I. Disseminating research findings: what should researchers do? A systematic scoping review of conceptual frameworks. **Implement Sci** 5: 91–107, 2012.

YOUSAF, N., KREISEL, H., KHALID, A.N. *Bovista himalaica* sp. nov. (gasteroid fungi; Basidiomycetes) from Pakistan. **Mycol Prog** 12: 569–574, 2013.

ZAMORA, J.C., DIOS, M.M., MORENO, G. Clarifying the identity of *Geastrum campestre* var. *famatinum* (Geastrales, Basidiomycota). **Phytotaxa** 328(2): 159, 2017.

ZELLER, S.M. Keys to the orders, families, and genera of the gasteromycetes. **Mycologia** 41: 36–58, 1949.

APÊNDICE A – TODOS OS ESPÉCIMES DE BOVISTA ESTUDADOS INCLUÍDOS OS RESPECTIVOS NÚMEROS DOS HERBÁRIOS (VOUCHERS), OS PAÍSES E O TIPO DE ANÁLISE REALIZADA.

Espécie	Nº do Herbário (voucher)	País	Tipo de análise
<i>B. aestivalis</i> (como <i>B. dakotensis</i>)	BPI 844732	Estados Unidos	Morfologia/Molecular
<i>B. cf. aestivalis</i>	NY 0065017	Estados Unidos	Morfologia/Molecular
<i>B. aspera</i>	NY 0065850	Chile	Morfologia/Molecular
<i>B. albosquamosa</i>	M 222086	Nepal	Morfologia/Molecular
<i>B. albosquamosa</i>	M 222087	Nepal	Morfologia
<i>B. albosquamosa</i>	M 222088	Nepal	Morfologia
<i>B. albosquamosa</i>	M 222089	Nepal	Morfologia
<i>B. albosquamosa</i>	M 222090	Nepal	Morfologia/Molecular
<i>B. albosquamosa</i>	M 222091	Nepal	Morfologia
<i>B. albosquamosa</i> (como <i>B. glacialis</i>)	M 222079	Nepal	Morfologia/Molecular
<i>B. californica</i>	M 222085	Estados Unidos	Morfologia/Molecular
<i>B. californica</i>	NY 00064802	Estados Unidos	Morfologia/Molecular
<i>B. californica</i>	NY 00064803	Estados Unidos	Morfologia/Molecular
<i>B. californica</i>	NY 00064804	Estados Unidos	Morfologia/Molecular
<i>B. dryina</i>	NY 00475295	Estados Unidos	Morfologia
<i>B. dryina</i>	NY 00475296	Estados Unidos	Morfologia/Molecular
<i>B. dryina</i>	NY 00065588	Estados Unidos	Morfologia
<i>B. dryina</i>	UFRN-863	Brasil	Morfologia
<i>B. glacialis</i>	M 222080	Nepal	Morfologia/Molecular
<i>B. glacialis</i>	M 222081	Nepal	Morfologia
<i>B. glacialis</i>	M 222082	Nepal	Morfologia
<i>B. glacialis</i>	M 222083	Nepal	Morfologia
<i>B. glacialis</i>	M 222084	Nepal	Morfologia
<i>B. grandipora</i>	URM 80067	Brasil	Morfologia
<i>B. grandipora</i>	URM 80068	Brasil	Morfologia
<i>B. grandipora</i>	URM 80069	Brasil	Morfologia/Molecular

Espécie	Nº do Herbário (voucher)	País	Tipo de análise
<i>B. grandipora</i>	URM 80070	Brasil	Morfologia
<i>B. grandipora</i>	URM 80071	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>B. grandipora</i>	URM 80072	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>B. grandipora</i>	URM 80073	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>B. grandipora</i>	UFRN-Fungos (SULZ06)	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>B. halophila</i>	WU 20607	Réunion	Morfologia/Molecular
<i>B. hollosii</i>	M 222095	República Checa	Morfologia
<i>B. limosa</i>	NY 1771757	Canadá	Morfologia
<i>B. limosa</i>	NY 1771758	Canadá	Morfologia/Molecular
<i>B. limosa</i>	NY 1771759	Finlândia	Morfologia/Molecular
<i>B. limosa</i>	NY 00065596	Bélgica	Morfologia
<i>B. limosa</i>	NY 00064841	Estados Unidos	Morfologia
<i>B. nigrescens</i> (como <i>B. bovistoides</i>)	M 222092	Nepal	Morfologia/Molecular
<i>B. nigrescens</i> (como <i>B. fulva</i>)	M 222093	Nepal	Morfologia/Molecular
<i>B. nigrescens</i> (como <i>B. fulva</i>)	M 222094	Nepal	Morfologia/Molecular
<i>B. oblongispora</i>	BPI 706920	África do Sul	Morfologia
<i>B. oblongispora</i>	PACA 13781	Brasil	Morfologia
<i>B. oblongispora</i>	ICN 154450	Brasil	Morfologia
<i>B. oblongispora</i>	NY 00064842	Porto Rico	Morfologia
<i>B. oblongispora</i>	NY 00064843	México	Morfologia
<i>B. oblongispora</i>	NY 00064844	México	Morfologia
<i>B. oblongispora</i>	NY 00064845	Jamaica	Morfologia
<i>B. pusilliformis</i>	M 222078	Alemanha	Morfologia/Molecular
<i>B. reunionis</i>	WU 23995	Réunion	Morfologia/Molecular
<i>B. sclerocystis</i>	XAL 823	México	Morfologia
<i>B. sclerocystis</i>	MA-Fungi 52379	México	Morfologia/Molecular
<i>B. tomentosa</i> (como <i>B. minor</i>)	NY 00064850	Estados Unidos	Morfologia/Molecular
<i>Bovista</i> sp. 4	UFRN-Fungos 818	Brasil	Morfologia
<i>Bovista</i> sp. 4	UFRN-Fungos 1191	Brasil	Morfologia/Molecular

Espécie	Nº do Herbário (voucher)	País	Tipo de análise
<i>Bovista</i> sp. 4	UFRN-Fungos 1944	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>Bovista</i> sp. 4	UFRN-Fungos 2071	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>Bovista</i> sp. 4	UFRN-Fungos 2663	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>Bovista</i> sp. 4	UFRN-Fungos 2664	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>Bovista</i> sp. 4	UFRN-Fungos 2665	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>Bovista</i> sp. 5	UFRN-Fungos 2609	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>Bovista</i> sp. 6	UFRN-Fungos 2861	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>Bovista</i> sp. 7	UFRN-Fungos PB03	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>Bovista</i> sp. 7	UFRN-Fungos 1174	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>Bovista</i> sp. 8	UFRN-Fungos 1036	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>Bovista</i> sp. 8	UFRN-Fungos 1948	Brasil	Morfologia
<i>Bovista</i> sp. 9	UFRN-Fungos 1283	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>Bovista</i> sp. 9	UFRN-Fungos 945	Brasil	Morfologia/Molecular
<i>Bovista</i> sp. 10	UFRN-Fungos 776	Brasil	Morfologia
<i>Bovista</i> sp. 11	UFRN-Fungos 408	Brasil	Morfologia
<i>Bovista</i> sp. 11	UFRN-Fungos 711	Brasil	Morfologia
<i>Bovista</i> sp. 11	UFRN-Fungos 1206	Brasil	Morfologia
<i>Bovista</i> sp. 11	UFRN-Fungos 486	Brasil	Morfologia
<i>Bovista</i> sp. 12	UFRN-Fungos 506	Brasil	Morfologia
<i>Bovista</i> sp. 12	UFRN-Fungos 740	Brasil	Morfologia
<i>Bovista</i> sp. 12	UFRN-Fungos 1189	Brasil	Morfologia
<i>Bovista</i> sp. 12	UFRN-Fungos 1023	Brasil	Morfologia

APÊNDICE B – TODAS AS EQUÊNCIAS DE ESPÉCIMES DE *BOVISTA*, *BOVISTELLA* E *LYCOPERDON* UTILIZADAS NESSE TRABALHO O NOME TÁXON, A COLEÇÃO, O HERBÁRIO, O PAÍS E O NÚMERO DE ACESSO DO GENBANK. EM NEGRITO ESTÃO TODAS AS SEQUÊNCIAS GERADAS NESSE TRABALHO ATÉ O PRESENTE MOMENTO; ACC. N. INDICA AS SEQUÊNCIAS QUE AINDA NÃO FORAM DEPOSITADAS.

Espécie	Coleção	Herbário	País	Nº do GenBank
<i>B. aestivalis</i>	MJ 1122	GB	Suécia	DQ112620
<i>B. aestivalis</i>	KA12-1278	-----	Coréia do Sul	KR673517
<i>B. aestivalis</i>	FLAS-F-61679	-----	Estados Unidos	MH212045
<i>B. aestivalis</i>	STB0124	Herb. Bates	Estados Unidos	FJ438477
<i>B. aestivalis</i>	STB075	Herb. Bates	Estados Unidos	EU833650
<i>B. aestivalis</i>	MC-Fungi 02-10251	MC-Fungi	Macedônia	KX998909
<i>B. aestivalis</i>	MC-Fungi 06-6239	MC-Fungi	Macedônia	KX998910
<i>B. aestivalis</i>	MC-Fungi 98-10240	MC-Fungi	Macedônia	KX998911
<i>B. aestivalis</i>	MC-Fungi 06-7933	MC-Fungi	Macedônia	KX998912
<i>B. aestivalis</i>	MA-Fungi 4013	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. aestivalis</i>	MA-Fungi 30272	MA-Fungi	Espanha	KX998914
<i>B. aestivalis</i>	MA-Fungi 30685	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. aestivalis</i> (como <i>B. cf. perventinum</i>)	NY 00065017	NY	Estados Unidos	Acc. N.
<i>B. aestivalis</i> (como <i>B. dakotensis</i>)	BPI 844732	BPI	Estados Unidos	Acc. N.
<i>B. aspera</i>	NY 00065850	NY	Chile	Acc. N.
<i>B. aspera</i> (como <i>Bovista</i> sp.)	MA-Fungi 82306	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. aspera</i> (como <i>Bovista pusilla</i>)	MA-Fungi 32113	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. aspera</i> (como <i>Bovista</i> sp.)	MA-Fungi 74395	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. aspera</i> (como <i>Bovista delicata</i>)	MA-Fungi 30687	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. aspera</i> (como <i>Bovista pusilla</i>)	TENN58031	TENN	Alemanha	AJ237631
<i>B. albosquamosa</i>	M 222086	M	Nepal	KX998897
<i>B. albosquamosa</i>	M 222090	M	Nepal	Acc. N.
<i>B. albosquamosa</i> (como <i>B. glacialis</i>)	M 222079	M	Nepal	KX998898

Espécie	Coleção	Herbário	País	Nº do GenBank
<i>B. californica</i>	M 222085	M	Estados Unidos	KX998900
<i>B. californica</i>	NY 00064803	NY	Estados Unidos	KX998901
<i>B. californica</i>	NY 00064804	NY	Estados Unidos	KX998902
<i>B. capensis</i>	MJ 7770	GB	Espanha	DQ112621
<i>B. colorata</i>	MA-Fungi 4027	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. cretacea</i>	Hallgrímsson 11622	AMNH	Islândia	DQ112610
<i>B. cretacea</i>	MJ 5702	GB	Noruega	DQ112611
<i>B. cunninghamii</i>	MA-Fungi 74655	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. cunninghamii</i>	MA-Fungi 74773	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. dryina</i>	NY 00475296	NY	Estados Unidos	Acc. N.
<i>B. furfuracea</i>	MJ 5435	GB	Suécia	DQ112622
<i>B. glacialis</i>	M 222080	M	Nepal	Acc. N.
<i>B. grandipora</i>	URM 80069	URM	Brasil	Acc. N.
<i>B. grandipora</i>	URM 80071	URM	Brasil	Acc. N.
<i>B. grandipora</i>	URM 80072	URM	Brasil	Acc. N.
<i>B. grandipora</i>	URM 80073	URM	Brasil	Acc. N.
<i>B. graveolens</i>	Widgren030816	GB	Suécia	DQ112618
<i>B. halophila</i>	WU 20607	WU	Réunion	KX998903
<i>B. himalaica</i>	MH2011	LAH	Paquistão	JX183689
<i>B. himalaica</i>	NYGL5	LAH	Paquistão	JX183690
<i>B. himalaica</i>	NYG1	LAH	Paquistão	JX183691
<i>B. himalaica</i>	NYG2	LAH	Paquistão	JX183692
<i>B. himalaica</i>	NYG3	LAH	Paquistão	JX183693
<i>B. hollosii</i>	Finy45	GB	Hungria	KT958937
<i>B. hollosii</i>	MJ6045	GB	Hungria	KT958938
<i>B. limosa</i>	EL4_06	GB	Suécia	EU915074
<i>B. limosa</i>	MJ060816	GB	Suécia	EU915075
<i>B. limosa</i>	MJ 5226	GB	Suécia	DQ112615
<i>B. limosa</i>	NY 1771758	NY	Canadá	Acc. N.
<i>B. limosa</i>	NY 1771759	NY	Finlândia	Acc. N.
<i>B. nigrescens</i> (como <i>B.</i>	HC-PNNT-292	-----	México	KT874974

Espécie	Coleção	Herbário	País	Nº do GenBank
cf. <i>graveolens</i>)				
<i>B. nigrescens</i> (como <i>B. bovistoides</i>)	M 222092	M	Nepal	KX998905
<i>B. nigrescens</i> (como <i>B. fulva</i>)	M 222093	M	Nepal	KX998906
<i>B. nigrescens</i> (como <i>B. fulva</i>)	M 222094	M	Nepal	KX998907
<i>B. nigrescens</i>	MA-Fungi 16953	MA-Fungi	Espanha	
<i>B. nigrescens</i>	MA-Fungi 24072	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. nigrescens</i>	MA-Fungi 32350	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. nigrescens</i>	MA-Fungi 4502	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. nigrescens</i>	MA-Fungi 73910	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. paludosa</i>	DA-29 / REG130882AB	REG	Alemanha	AJ237630
<i>B. paludosa</i>	MJ 4301	GB	Noruega	DQ112609
<i>B. plumbea</i>	TENN58027	TENN	Escócia	AJ237629
<i>B. plumbea</i>	MJ 4856	GB	Suécia	DQ112613
<i>B. plumbea</i>	NYGD01	LAH	Paquistão	JX183694
<i>B. plumbea</i>	NYG22	LAH	Paquistão	JX183695
<i>B. plumbea</i>	MA-Fungi 26772	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. plumbea</i>	MA-Fungi 27295	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. plumbea</i>	MA-Fungi 34115	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. plumbea</i>	MA-Fungi 55057	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. plumbea</i>	MA-Fungi 62158	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. plumbea</i>	MA-Fungi 63398	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. plumbea</i>	MA-Fungi 68080	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. plumbea</i>	MA-Fungi 68083	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. plumbea</i>	MA-Fungi 73602	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. plumbea</i>	MA-Fungi 75590	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. polymorpha</i>	TENN58028	TENN	Alemanha	AJ237613
<i>B. pusilla</i>	MJ 3971	GB	Suécia	DQ112614
<i>B. pusilla</i>	MJ 8305	GB	Suécia	EU915072
<i>B. pusilla</i>	MJ 8365	GB	Suécia	EU915073
<i>B. pusilla</i>	MA-Fungi 32348	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. pusilliformis</i>	M 222078	M	Alemanha	KX998899

Espécie	Coleção	Herbário	País	Nº do GenBank
<i>B. pusilliformis</i>	MA-Fungi 43275	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. reunionis</i>	WU 23995	WU	Réunion	KX998904
<i>B. sclerocystis</i>	MA-Fungi 52379	MA-Fungi	México	Acc. N.
<i>B. septina</i>	MA-Fungi 34355	MA-Fungi	Venezuela	Acc. N.
<i>B. tomentosa</i>	MJ 3743	GB	Noruega	KT958934
<i>B. tomentosa</i>	MJ 10153	GB	Suécia	KT958935
<i>B. tomentosa</i>	MJ 3874	GB	Suécia	KT958936
<i>B. tomentosa</i>	MJ 5433	GB	Suécia	DQ112616
<i>B. tomentosa</i>	Steinke 951015	GB	Estados Unidos	DQ112617
<i>B. tomentosa</i>	MA-Fungi 17631	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. tomentosa</i>	MA-Fungi 20726	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>B. tomentosa</i> (como <i>B. minor</i>)	NY 00064850	NY	Estados Unidos	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp. 1	MA-Fungi 45098	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp. 2	MC-Fungi 02-10219	MC-Fungi	Macedônia	KX998908
<i>Bovista</i> sp. 2	MA-Fungi 66693	MA-Fungi	Espanha	KX998913
<i>Bovista</i> sp. 3	MA-Fungi 168	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp. 4	UFRN-Fungos 1191	UFRN-Fungos	Brasil	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp. 4	UFRN-Fungos 1944	UFRN-Fungos	Brasil	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp. 4	UFRN-Fungos 2071	UFRN-Fungos	Brasil	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp. 4	UFRN-Fungos 2663	UFRN-Fungos	Brasil	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp. 4	UFRN-Fungos 2664	UFRN-Fungos	Brasil	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp. 4	UFRN-Fungos 2665	UFRN-Fungos	Brasil	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp. 5	UFRN-Fungos 2609	UFRN-Fungos	Brasil	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp. 6	UFRN-Fungos 2861	UFRN-Fungos	Brasil	MN243154/ MN243155
<i>Bovista</i> sp. 7	UFRN-Fungos PB03	UFRN-Fungos	Brasil	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp. 7	UFRN-Fungos 1174	UFRN-Fungos	Brasil	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp. 8	UFRN-Fungos 1036	UFRN-Fungos	Brasil	Acc. N.

Espécie	Coleção	Herbário	País	Nº do GenBank
<i>Bovista</i> sp. 9	UFRN-Fungos 1283	UFRN-Fungos	Brasil	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp. 9	UFRN-Fungos 945	UFRN-Fungos	Brasil	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp.	MA-Fungi 75180	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp.	MA-Fungi 44448	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp. (como <i>Lycoperdon pusillum</i>)	MA-Fungi 45268	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp.	MA-Fungi 16986	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>Bovista</i> sp.	MA-Fungi 74730	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>Bryoperdon acuminatum</i>	TO HG201016	TO	Itália	KY581202/ KY581200
<i>Bryoperdon acuminatum</i>	TO HG201016	TO	Itália	KY581201/ KY581199
<i>Lycoperdon radicum</i>	MA-Fungi 25321	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>Lycoperdon radicum</i>	MA-Fungi 53191	MA-Fungi	Espanha	Acc. N.
<i>Lycoperdon caudatum</i>	RGC 920818	GB	Suécia	DQ112633
<i>Lycoperdon norvegicum</i>	MJ 5453	GB	Suécia	DQ112631
<i>Lycoperdon perlatum</i>	MJ4684	GB	Suécia	DQ112630
<i>Lycoperdon subcretaceum</i>	MJ9032	GB	Suécia	JN572908