

Terrestrial phototrophic biofilms on artificial substrates: diversity of cyanobacteria and microalgae in a small urban town (Pushchino, Russia)

Redkina V.V.*, Krivina E.S., Temraleeva A.D.

G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Scientific Center for Biological Research, Russian Academy of Sciences, Nauki pr-t, 5, Pushchino, Moscow region, 142290, Russian Federation

ABSTRACT. We aimed to study the taxonomic diversity of cyanobacteria and eukaryotic microalgae that form phototrophic biofilms on artificial substrates in a small town. During the study, 19 strains of phototrophic microorganisms were isolated and characterized from various building materials of urban buildings and structures (concrete, cement-sand mortar, plaster, metal, and wood). Combined molecular phylogenetic and morphological analyses permitted the characterization of 5 cyanobacterial and 14 microalgal strains, among which the genera *Klebsormidium* and *Chloroidium* predominated. Substrate specificity of the phototrophs was confirmed: the highest taxonomic richness was associated with porous and moisture-retaining materials (concrete), as well as with metal surfaces. Of particular interest were two strains, *Leptolyngbya* sp. VKM Al-382 and *Cymatolege* sp. VKM Al-383, which are candidates for species new to science. For the first time, a member of the genus *Cymatolege*, previously known exclusively as an associated symbiont of marine sponges, was detected in a terrestrial biotope on an anthropogenic substrate, substantially expanding our knowledge of the ecological plasticity of this group. All obtained cultures were deposited in the microbial collection, thereby providing a foundation for further fundamental and applied research in the fields of biocorrosion and the development of bio-protection methods for building materials.

Keywords: phylogeny, 16S rRNA, 16S-23S ITS, ITS2, rbcL, All-Russian Collection of Microorganisms

For citation: Redkina V.V., Krivina E.S., Temraleeva A.D. Terrestrial phototrophic biofilms on artificial substrates: diversity of cyanobacteria and microalgae in a small urban town (Pushchino, Russia) // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 437-469. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-437

1. Introduction

The surfaces of urban buildings and structures, made of various building materials (concrete, natural stone, plaster, and even glass), represent specific ecosystems subjected to constant exposure to abiotic and biotic factors (Macedo et al., 2021; Nowicka-Krawczyk et al., 2022; Huaman et al., 2025). Primary colonizers of these inert substrates are phototrophic microorganisms—cyanobacteria and eukaryotic microalgae, which, through photosynthesis, form an organic base for subsequent colonization by heterotrophic bacteria and fungi (Crispim et al., 2003; Albertano, 2012; Keshari et al., 2021).

Climatic conditions and the nature of the substrate determine the taxonomic composition and dominance of phototrophs in biofilms. In regions with a temperate climate, eukaryotic green algae more often

dominate on facades, whereas in tropical and subtropical zones, as well as on surfaces exposed to extreme insolation and desiccation, cyanobacteria act as dominants (Crispim et al., 2003; Barberousse, 2006; Samad and Adhikary, 2008; Gaylarde, 2020). At the same time, the porosity and moisture-retaining capacity of the material (e.g., the difference between cement mortars and limestone) directly affect the prevalence of filamentous or coccoid forms, as well as the ratio of algae to cyanobacteria (Crispim et al., 2003; Reboah et al., 2023).

The survival of phototrophs on open facades requires specialized adaptations to UV radiation, temperature fluctuations, and prolonged desiccation (Albertano, 2012; Kala and Pandey, 2021; Keshari et al., 2021). To protect against ultraviolet radiation, many cyanobacteria synthesize screening pigments such as scytonemin and mycosporine-like amino

*Corresponding author. E-mail address: kalmykova_v_v@mail.ru (V.V. Redkina)

Received: July 02, 2026;

Accepted after revised: July 30, 2026;

Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



acids (Albertano, 2012; Keshari and Adhikary, 2014; Gaylarde, 2020). The synthesis of extracellular polymeric substances (EPS) plays a key role in adaptation to drought and adhesion to the substrate. EPS form the protective matrix of the biofilm, retain moisture, creating a local microclimate, and ensure strong attachment of cells to the mineral matrix (Piontek and Lechów, 2014; Galindo-Alcázar et al., 2018; Kala and Pandey, 2021; Huaman et al., 2025).

Colonization by phototrophs causes two main types of damage: aesthetic and structural. Aesthetic degradation manifests as a change in the color of facades (the appearance of green, black, red, or brown spots) due to the presence of photosynthetic pigments, carotenoids, and scytonemin (Shirakawa et al., 2012; Gaylarde, 2020; Keshari et al., 2021). Structural damage is caused both by physical pressure arising from the cyclic swelling and shrinking of the EPS matrix during wetting-drying cycles, and by biochemical exposure: the secretion of organic acids and chelating agents that dissolve the mineral matrix of the substrate (Scheerer et al., 2009; Piontek and Lechów, 2014; Nowicka-Krawczyk et al., 2022; Huaman et al., 2025).

Although historically research has focused primarily on cultural heritage objects (Scheerer et al., 2009; Albertano, 2012), the problem of colonization of facades of modern urban buildings is of no less economic, aesthetic, and practical significance (D’Orazio and Quagliarini, 2023; Reboah et al., 2023).

The relevance of the research determines its aim—to study the diversity of cyanobacteria and algae in phototrophic biofilms of artificial substrates in a small town (Pushchino).

2. Materials and methods

2.1. Sampling

In May 2022, samples of visually distinguishable phototrophic biofilms on various artificial substrates were aseptically collected in Pushchino, Moscow Region (54°50' N 37°37' E), for the study: surfaces of a concrete basement and steps (four samples), a brick wall (two samples), metal (three samples), and wooden (one sample) posts (Fig. 1).

2.2. Isolation, cultivation, and purification of strains

Biofilm samples were plated onto solid BG11 medium with and without nitrogen and repeatedly subcultured until unialgal cultures were obtained. Strains were cultivated in a KC-200 climatostat (Smolensk SKTB SPU, Russia) under standard conditions (temperature +23 °C; light intensity 60–75 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$; 12 h photoperiod). All studied strains were deposited in the ACSSI Algal Collection (Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil



Fig.1. Sampling sites for biofilms. A – entrance steps; B – plastered basement of a residential building; C – brick wall, mortar joint; D – bottom of the metal canopy support; E – metal canopy support; F – wooden canopy support.

Science, Russian Academy of Sciences, Pushchino) and subsequently transferred to the All-Russian Collection of Microorganisms (VKM, Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pushchino).

2.3. Morphological analysis

Biofilm samples were examined on the day of sampling using a Leica DM750 light microscope (Germany). Morphological features and life cycles of the strains isolated from biofilms were observed on a Carl Zeiss Axio Scope A1 microscope (Germany) at the Shared Research Facility of the Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science (Russian Academy of Sciences, Pushchino) using differential interference contrast microscopy. The results were documented by photographs taken with a Carl Zeiss MRc 5 color digital camera (Germany). Observation periods ranged from two weeks to six months (such a prolonged period is due to the slow growth of cyanobacterial cultures). The following characteristics were taken into account for the morphological identification of cyanobacterial strains: thallus organization, presence and color of mucilage, presence of akinetes and heterocytes, size and shape of vegetative cells, among others. For eukaryotic algae, the following traits were recorded: thallus organization type, cell shape and size, presence and thickness of mucilaginous envelopes, number and type of chloroplasts, presence of a pyrenoid and structure of the starch envelope, modes of reproduction, among others. For cell size estimation, at least 100 measurements were performed. The classification of algae adopted in this study follows the International electronic database AlgaeBase (Guiry and Guiry, 2025).

2.4. DNA extraction, amplification, and sequencing

Total DNA was extracted using the DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, USA) column-based system according

to the manufacturer's protocol. Amplification was performed using the ready-to-use PCR mix Screen Mix-HS (Evrogen, Russia). The primers and amplification conditions for the 16S rRNA gene and the 16S–23S ITS spacer for cyanobacteria (Taton et al., 2003; Strunecký et al., 2010), ITS2 for green microalgae (White et al., 1990), and *rbcL* for charophyte algae are listed in Table 1. Target PCR products were detected electrophoretically in a 1% agarose gel (SYBR Safe stain). For subsequent gel purification of amplicons, the Cleanup S-Cap kit (Evrogen, Russia) was used. Nucleotide sequencing was performed at Evrogen JSC (Russia).

2.5. Molecular phylogenetic analysis

Editing and assembly of consensus sequences were performed by visual comparison of forward and reverse chromatograms using the BioEdit program. Molecular-genetic identification of cyanobacterial and microalgal strains was carried out by homology search of the nucleotide sequences of the target markers using the BLASTn algorithm against the GenBank NCBI database (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) (Sayers et al., 2021). Sequences were selected based on criteria of maximum similarity, read quality (without degenerate or unknown nucleotides), read length, and affiliation with type species and authentic collection strains. Multiple sequence alignment was performed using MAFFT ver. 7 (Katoh et al., 2019). The model of nucleotide substitution was selected using IQ-TREE v. 2.2 (Minh et al., 2020) based on the minimum value of the Bayesian Information Criterion (BIC) (Hoang et al., 2018). Evaluation of branch topology using the SH-aLRT test was implemented within the phylogenetic tree construction module of uGENE (Shimodaira, 2002). Phylogenetic reconstruction using the maximum likelihood (ML) method was performed in IQ-TREE v. 2.2. Bayesian inference (BI) phylogenetic trees were constructed using BEAST v10.5.0 (Baele et al., 2025) following the recommendations of Barido-Sottani et al. (2024). An uncorrelated relaxed clock model with a lognormal distribution of substitution rates across

Table 1. Primers and amplification conditions for target genes and spacers.

Marker	Primers	Conditions
16S rRNA + ITS	27F: AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 359F*: GGGGGATTTTCCGCAATGGG 1407F*: TGTACACACCGCCCGTC	94°C – 5 min; 94°C – 30 s; 55°C – 30 s; 72°C – 3 min, 40 cycles; 72°C – 7 min.
	781R*: GACTACTGGGGTATCTAATCCCATT 1467R*: AAGGAGGTGATCCAGCCACA 23S30R: CTTCGCCTCTGTGTGCCTAGGT	
ITS2	ITS3F: GCATCGATGAAGAACGCAGC ITS4R: TCCTCCGCTTATTGATATGC	95°C – 3 min.; 95°C – 30 s; 57.6°C – 30 s; 72°C – 1 min, 35 cycles; 72°C – 10 min.
<i>rbcL</i>	KF2: ACTTACTACACTCCTGATTATGA	95°C – 2 min.; 94°C – 1 min; 47°C – 1 min; 72°C – 3 min, 40 cycles; 72°C – 8 min.
	KR2: GGTTGCCTTCGCGAGCTA	

Note: Asterisks (*) denote internal sequencing primers.

branches was employed as the molecular clock model, and a Birth–Death process was used as the tree prior. The analysis was performed using the Markov Chain Monte Carlo (MCMC) method. For each studied microbial group, the MCMC chain was run for 100 million generations. Parameters and trees were sampled every 10,000 generations after discarding the first 25% of generations as burn-in. Convergence of runs and adequate sampling were verified in Tracer v1.7 (Rambaut et al., 2018), ensuring that all parameters reached an effective sample size (ESS) > 200. Phylogenetic trees were visualized in FigTree v. 1.3.1. As statistical support for tree nodes, SH-aLRT (Shimodaira–Hasegawa-like approximate likelihood ratio test), ML bootstrap percentages (BP), and BI posterior probabilities (PP) are indicated. Pairwise differences between nucleotide sequences were characterized using genetic distances, measured as the percentage of nucleotide mismatches in aligned sequences, calculated in MEGA 11 (Tamura et al., 2021). It was taken into account that genetic distance thresholds are not universal across different taxa but depend on tree topology, parameters of the evolutionary model, taxonomic composition, and the completeness and representativeness of the particular sequence dataset (Collins and Cruickshank, 2013). Prediction of the secondary structure of the conserved D1–D1' and BoxB helices of the 16S–23S ITS spacer was performed using the RNAfold web server (<http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi>, accessed on 20 June 2026).

3. Results and discussion

As a result of the study, 19 strains of cyanobacteria and microalgae were isolated (Table 2, Fig. 2).

3.1. Cyanobacteria

The cyanobacteria were represented by five strains belonging to three orders: Leptolyngbyales, Nodosilineales, and Oscillatoriales.

Strain VKM AI-380 exhibits the following morphological characteristics: filaments long, wavy, 3–4.3 µm wide, within thin colorless mucilaginous sheaths (Fig. 2A). False branching is occasionally observed. Trichomes of olive-green color, 2–2.9 µm wide, isopolar or slightly heteropolar (in older cultures), constricted at cross-walls. Cells range from very short (from 1 µm) to isodiametric; the apical cell is rounded. Necridic cells are rarely found.

In the 16S rRNA tree, the strain clustered within the *Leptolyngbya sensu stricto* clade with high statistical support (Fig. 3). Genetic distances between VKM AI-380 and authentic strains of different species within the clade ranged from 0.4% to 1.1%. This level corresponded to interspecific divergence within this clade, since distances between authentic strains of *L. boryana*, *L. corticola*, *L. tenerrima*, and *L. angustata* ranged from 0.1% to 0.9%. The secondary structure of the D1–D1' helix of the 16S–23S ITS spacer of VKM AI-380 was identical to that of *L. corticola* (Fig. 4) and differed from those of *L. boryana* and *L. tenerrima* in the nucleotide

composition of the terminal loop. The secondary structure of the boxB helix of strain VKM AI-380 was unique compared to the already described species of the genus *Leptolyngbya* (Fig. 5).

The morphology of strain VKM AI-380 is most similar to the description of *L. corticola* (Johansen et al., 2011) in several characters: trichome width, slight heteropolarity in ageing cultures, and the presence of necridic cells. However, the genetic distance value, the topology of the 16S rRNA tree, and the uniqueness of the boxB helix secondary structure of the 16S–23S ITS spacer do not allow us to confidently conclude that our strain is a member of that species. Therefore, we identify VKM AI-380 as *Leptolyngbya* sp.

The sister group in the 16S rRNA tree included strain VKM AI-382 (Fig. 3). This strain is characterized by straight or curved filaments 2.3–2.6 µm wide, with very thin, almost indistinct, colorless mucilaginous sheaths, without branching (Fig. 2B). Trichomes of olive-green color, 2–2.4 µm wide, isopolar, constricted at cross-walls. Cells are isodiametric or slightly shorter/longer than wide. The apical cell is conical with a rounded tip. Necridic cells were not observed.

Among the species of the genus *Leptolyngbya* that do not belong to the *Leptolyngbya sensu stricto* clade, i.e., *L. alkalina*, *L. koreana*, *L. vaporiphila*, *L. terrestris*, *L. salina*, and *L. hodgsonii*, genetic distances range from 1.4% to 7%. The distances between VKM AI-382 and the aforementioned species are 3.0–5.9%, corresponding to interspecific divergence levels. Thus, VKM AI-382 is a candidate for a new, undescribed species of cyanobacteria and is presently designated as *Leptolyngbya* sp.

Strain VKM AI-385 exhibits the following morphological characteristics: filaments long, straight or curved, 4–5 µm wide (Fig. 2C). False branching is occasionally observed. Mucilaginous sheaths are almost colorless in young cultures and dark grey in old ones. Trichomes of olive-green color, 2.3–2.7 µm wide, constricted at cross-walls, and may coil spirally within the sheath. Cells are barrel-shaped, isodiametric, or slightly shorter than wide. The apical cell is rounded. Necridic cells were not observed.

In the 16S rRNA tree, the strain clustered within a group that united representatives of two species, *Phormidesmis priestleyi* and *P. nigrescens*, and grouped with *P. priestleyi* G-49 with high statistical support (Fig. 3). The genetic distance between VKM AI-385 and G-49 strains was only 0.1%, while distances to the authentic *P. nigrescens* RL 08-6 and to *P. priestleyi* ANT. L66.1 (proposed as a reference strain for *P. priestleyi* by Davydov and Vilnet, 2022) were 1.6% and 1.3%, respectively. The secondary structures of the D1–D1' helix and the boxB helix of the 16S–23S ITS spacer of our strain were identical to those of *P. priestleyi* G-49 (Figs 4, 5). Since strain *P. priestleyi* G-49 was assigned to this species based on recent detailed studies (Davydov and Vilnet, 2022), VKM AI-385 was likewise identified as *Phormidesmis priestleyi*.

Strain VKM AI-383 exhibited an unusual phenotype. Filaments are long, straight or curved, occasionally falsely branched, 2.7–3.6 µm wide (Fig. 2D). Sheaths are thin, colorless, containing one (rarely

Table 2. Strains of cyanobacteria and eukaryotic microalgae isolated from biofilms on artificial substrates in the town of Pushchino.

No.	Taxon name	Collection strain, VKM AI-	Locality, substrate
Phylum Cyanobacteriophyta Class Cyanophyceae Order Leptolyngbyales			
1	<i>Leptolyngbya</i> sp.	380	Basement of the building, microdistrict G, building 26, entrance 1. The substrate: concrete
2	<i>Leptolyngbya</i> sp.	382	Basement of the building, microdistrict G, building 26, entrance 1. The substrate: concrete
3	<i>Phormidesmis priestleyi</i>	385	Lower part of the metal canopy support, microdistrict G, building 6, entrance 2 (Fig. 1D). The substrate: metal
Order Nodosilineales			
4	<i>Cymatolege</i> sp.	383	Steps, microdistrict G, building 28, entrance 1 (Fig. 1A). The substrate: concrete
Order Oscillatoriales			
5	<i>Microcoleus autumnalis</i>	384	Lower part of the metal canopy support, microdistrict G, building 6, entrance 2. The substrate: metal
Phylum Chlorophyta Class Trebouxiophyceae Order Prasiolales			
6	<i>Tritostichococcus corticola</i>	401	Steps, microdistrict G, building 28, entrance 1. The substrate: concrete
7	<i>Deutrostichococcus alpinus</i>	411	Wooden canopy support, BTI building (Fig. 1F). The substrate: wood
Order Watanabeales			
8	<i>Chloroidium saccharophilum</i>	400	Steps, microdistrict G, building 28, entrance 1. The substrate: concrete
9	<i>Chloroidium saccharophilum</i>	406	Metal canopy support, BTI building (Fig. 1E). The substrate: metal
10	<i>Chloroidium saccharophilum</i>	407	Steps, microdistrict G, building 28, entrance 1. The substrate: concrete
Class Chlorophyceae Order Sphaeropleales			
11	<i>Pseudomuriella schumacherensis</i>	399	Steps, microdistrict G, building 28, entrance 1. The substrate: concrete
12	<i>Pseudomuriella schumacherensis</i>	404	Lower part of the metal canopy support, microdistrict G, building 6, entrance 2. The substrate: metal
13	<i>Coelastrella affinis</i>	567	Brick wall, mortar joint, microdistrict AB (Fig. 1C). The substrate: cement-sand mortar
Phylum Charophyta Class Klebsormidiophyceae Order Klebsormidiales			
14	<i>Klebsormidium flaccidum</i>	402	Plastered basement, microdistrict G, building 7, entrance 1 (Fig. 1B). The substrate: plaster
15	<i>Klebsormidium flaccidum</i>	403	Lower part of the metal canopy support, microdistrict G, building 6, entrance 2. The substrate: metal
16	<i>Klebsormidium flaccidum</i>	405	Lower part of the metal canopy support, microdistrict G, building 5, entrance 2. The substrate: metal
17	<i>Klebsormidium mirabile</i>	398	Basement of the building, microdistrict G, building 26, entrance 1. The substrate: concrete
18	<i>Klebsormidium mirabile</i>	409	“Resonance” Club, basement, microdistrict D, building 20A. The substrate: concrete
19	<i>Klebsormidium mirabile</i>	410	“Resonance” Club, basement, microdistrict D, building 20A. The substrate: concrete

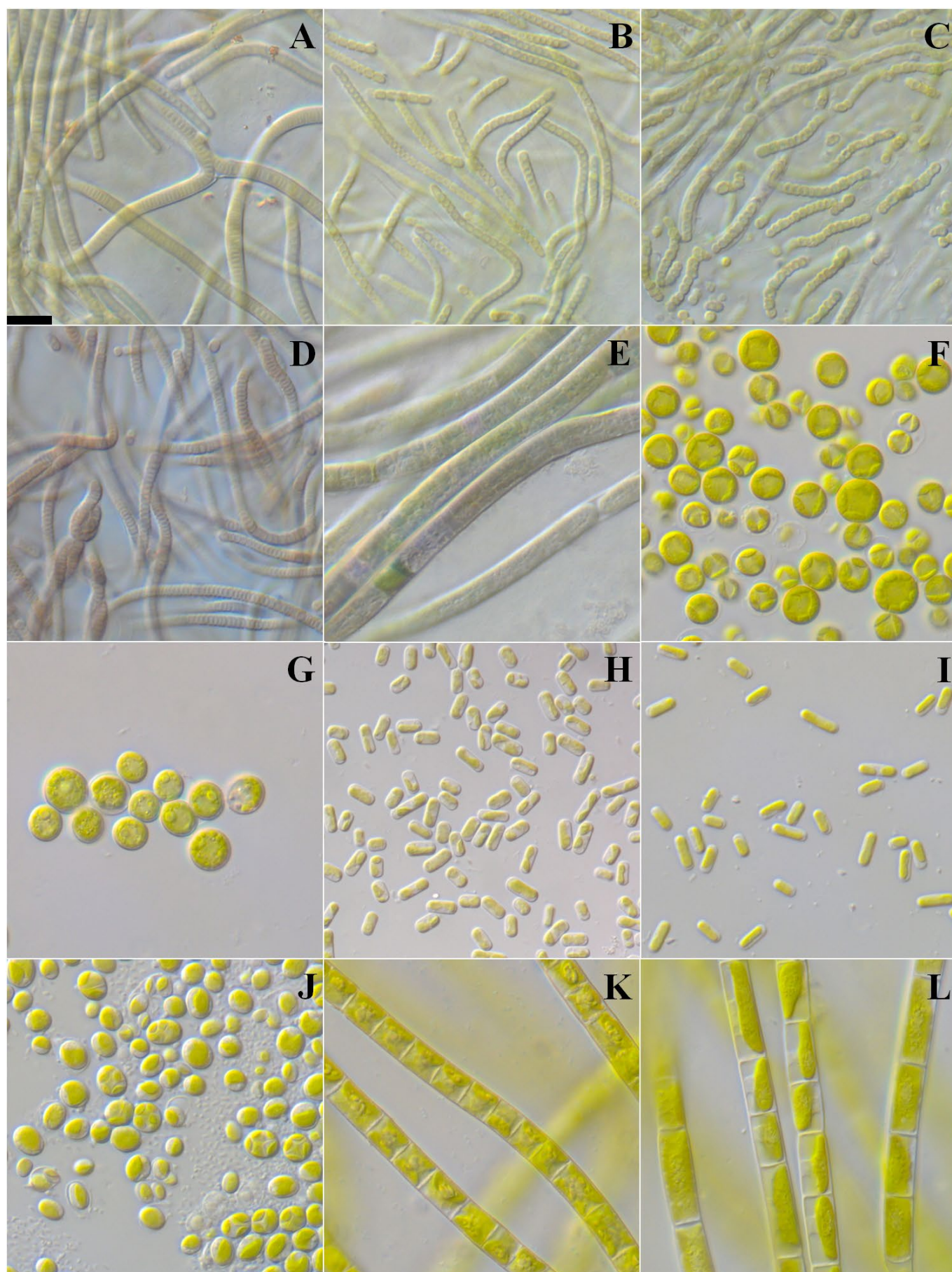


Fig.2. Photomicrographs of cyanobacterial and eukaryotic microalgal strains isolated from biofilms on artificial substrates in the town of Pushchino. A – *Leptolyngbya* sp. VKM A1-380; B – *Leptolyngbya* sp. VKM A1-382; C – *Phormidesmis priestleyi* VKM A1-385; D – *Cymatolege* sp. VKM A1-383; E – *Microcoleus autumnalis* VKM A1-384; F – *Pseudomuriella schumacherensis* VKM A1-399; G – *Coelastrrella affinis* VKM A1-567; H – *Tritostichococcus corticola* VKM A1-401; I – *Deuterostichococcus alpinus* VKM A1-411; J – *Chloroidium saccharophilum* VKM A1-406; K – *Klebsormidium flaccidum* VKM A1-402; L – *Klebsormidium mirabile* VKM A1-409. The scale bar in (A) applies to all panels and is 10 μm .

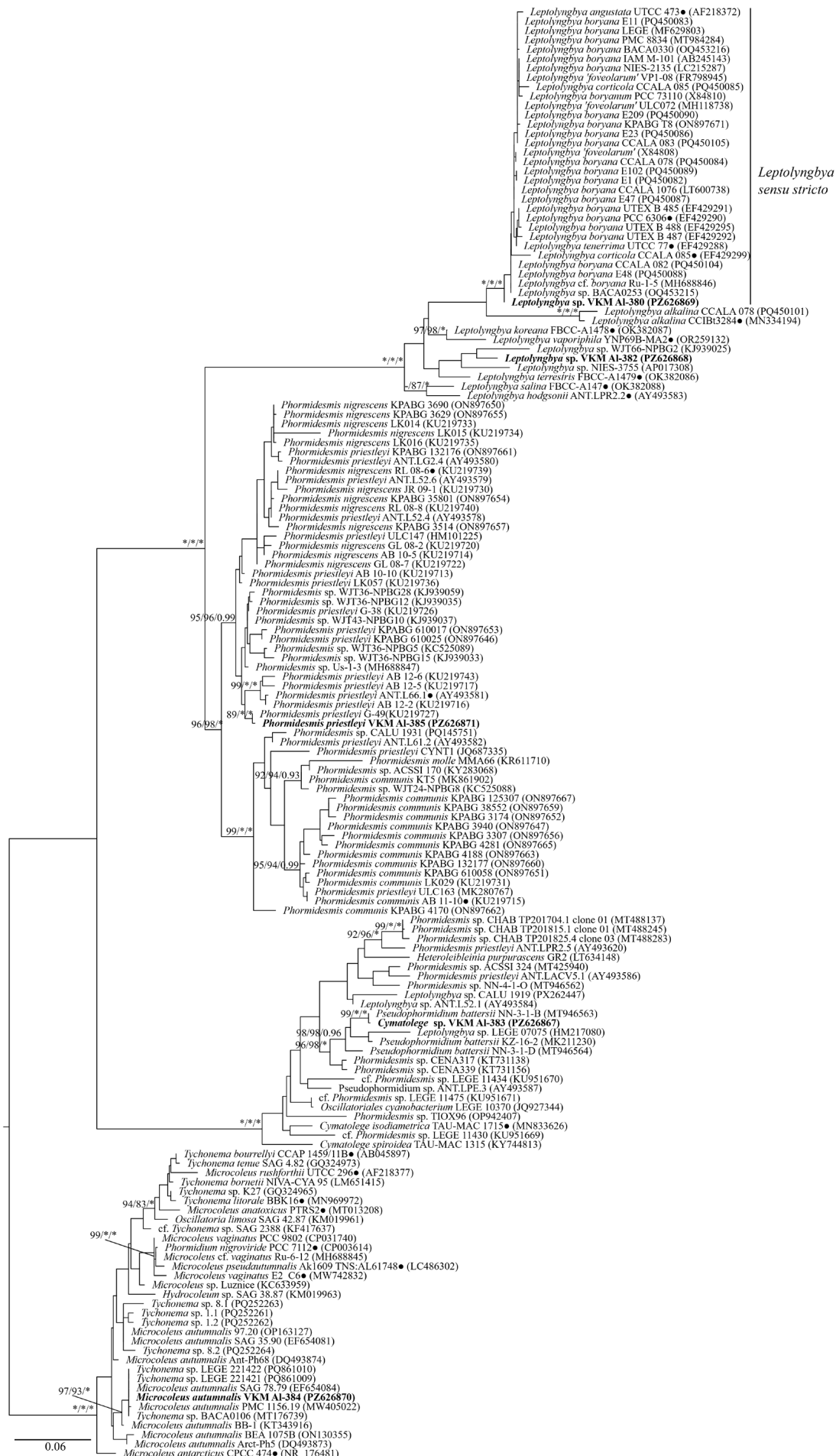


Fig.3. Phylogenetic tree of cyanobacteria based on the analysis of 16S rRNA gene sequences. SH-aLRT and bootstrap (BP) values below 90% and posterior probabilities (PP) below 0.95 are not shown. The GTR + I + G nucleotide substitution model was used. Authentic strains of taxonomically recognized species are indicated by a black dot. Strains examined in the present work are highlighted in bold.

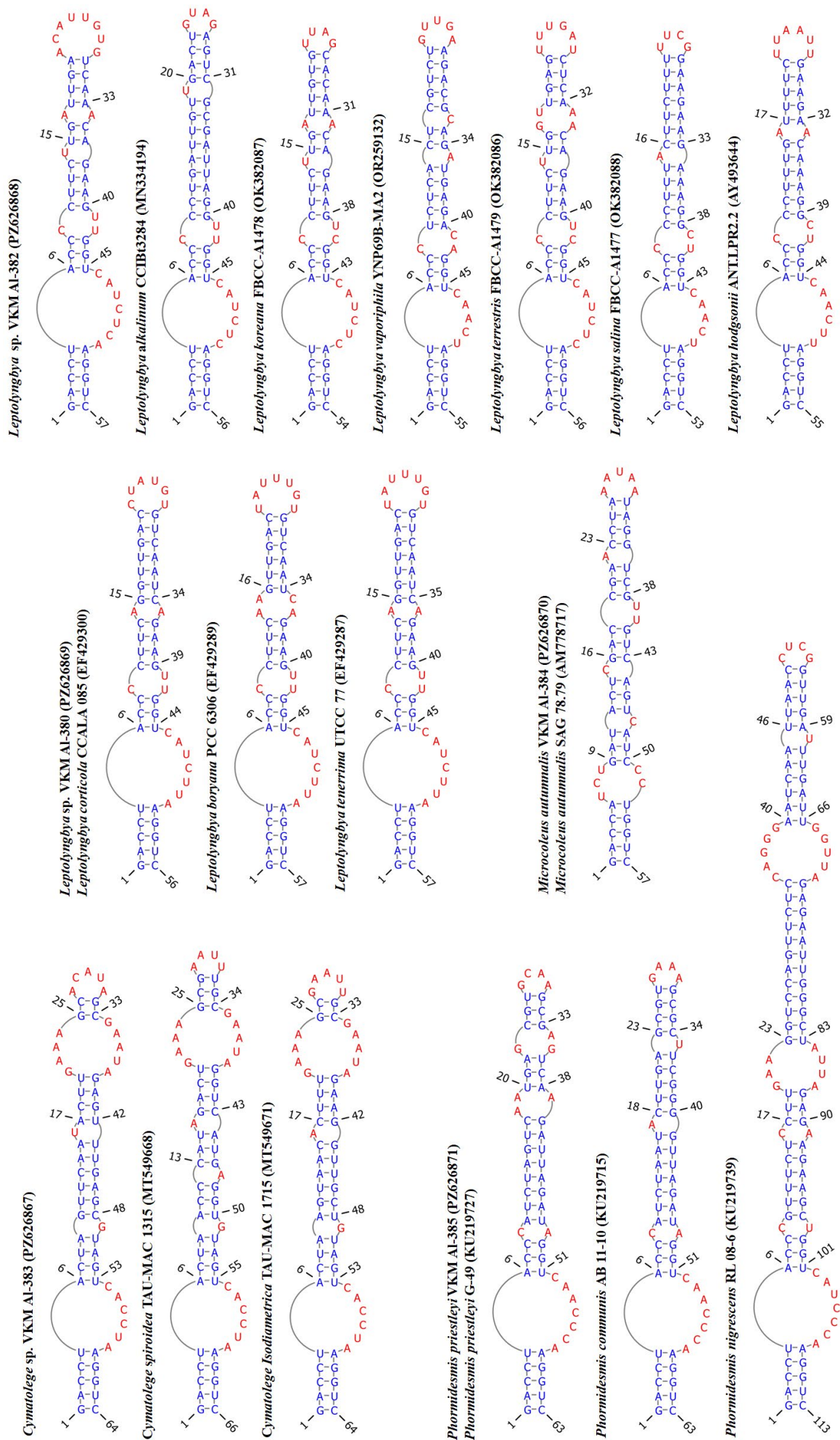


Fig.4. Secondary structure of the D1-D1' helix of the 16S-23S ITS spacer.

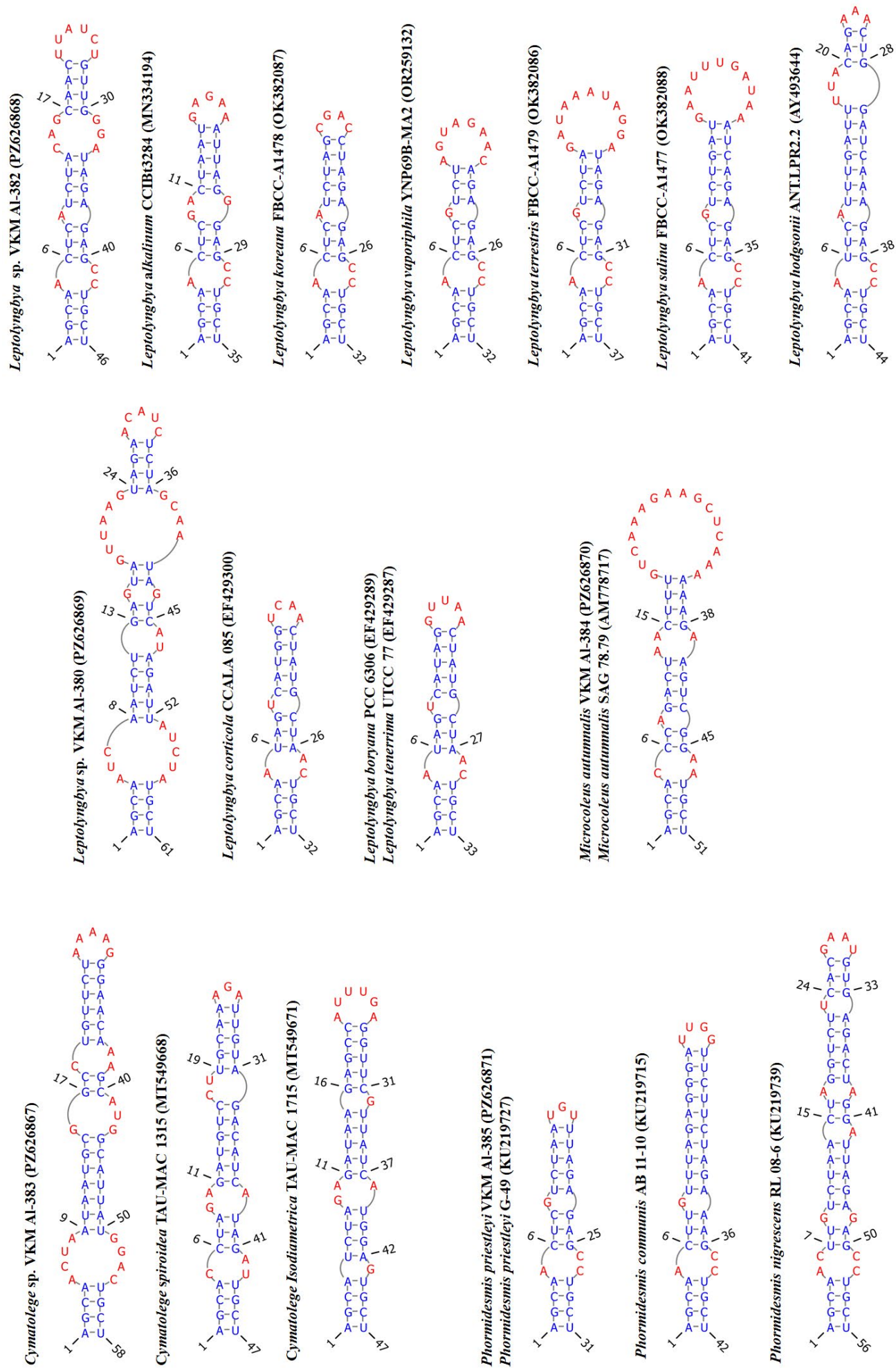


Fig.5. Secondary structure of the boxB helix of the 16S-23S ITS spacer.

more) trichome. Trichomes are pinkish, slightly constricted at cross-walls, 2.4–3.3 μm wide, and in some places spirally twisted, forming knots. Cells are shorter (from 1 μm) than wide, rounded at the trichome ends. Necridic cells are present.

In the 16S rRNA tree, this strain groups with strains designated as '*Pseudophormidium*' *battersii* (Fig. 3), which were found in saline habitats (Mikhailyuk et al., 2018; Sommer et al., 2020). Their taxonomic status is uncertain and requires revision (Sommer et al., 2020). In turn, these strains form, with maximum statistical support, a single clade with representatives of the recently described genus *Cymatolege*. Notably, the two described species, *C. spiroidea* and *C. isodiametrica*, were found in marine habitats in association with sponges and had a bright pink coloration (Konstantinou et al., 2021). The genetic distances between VKM Al-383 and the authentic strains of *C. spiroidea* and *C. isodiametrica* are 4.2% and 2.7%, respectively, while the distance between the two described species is 3.3%. The secondary structures of the D1-D1' helix and the boxB helix of the 16S–23S ITS spacer of our strain differ from those of the two described species (Figs 4, 5). Thus, VKM Al-383 forms a separate phylogenetic lineage within the clade corresponding to the genus and likely represents a new species of the genus *Cymatolege*.

Strain **VKM Al-384** is morphologically similar to members of the genus *Microcoleus* and is characterized by the following features: filaments 6.2–9.0 μm wide, with colorless mucilaginous sheaths (Fig. 2E). Trichomes are olive-green, 5–6.8 μm wide, not constricted at cross-walls, and capable of gliding motility. Cells are shorter than wide. The terminal cell bears a calyptra. Necridic cells are present.

In the 16S rRNA tree, the strain grouped with *Microcoleus autumnalis* SAG 78.79 with high statistical support (Fig. 3). There were no genetic distances between them. The secondary structures of the D1-D1' helix and the boxB helix of the 16S–23S ITS spacer were identical in both strains (Figs 4, 5). These strains, in turn, are part of a large clade that includes the authentic strain of *M. vaginatus* E2_C6 and representatives of other species of the genus *Microcoleus*. Thus, at present, we identify VKM Al-384 as *Microcoleus autumnalis*.

Eukaryotic microalgae were represented by 14 strains from two divisions, Chlorophyta (classes Trebouxiophyceae and Chlorophyceae) and Charophyta (class Klebsormidiophyceae).

3.2. Green algae

Strain **VKM Al-411** exhibited a typical morphotype of the genus *Stichococcus* (Pröschold and Darienko, 2020) (Fig. 2I). Cells were solitary or in pseudofilaments of 2–3 cells, measuring 5.3–9 $\times$ 2.4–3.2 μm . The length-to-width ratio ranged from 2.2 to 3. The chloroplast was single, parietal, without a pyrenoid. Reproduction occurred by cell division.

VKM Al-411 grouped within the genus *Deuterostichococcus* (Fig. 6) and clustered with the authentic strain *D. alpinus* FACHB-2327 (SH-aLRT–95%; BP–97%; PP–0.99), with a genetic distance of 1.7%

(intraspecific level). For comparison, the level of genetic divergence between *D. epilithicus* and *D. alpinus* was 17.8–18.1%.

Our strain differed somewhat from the recently described *D. alpinus* (Cao et al., 2025) in smaller cell dimensions and the absence of a pyrenoid as observed under light microscopy. However, cell dimensions may vary depending on culture age and cultivation conditions, and transmission electron microscopy is required to confirm the presence or absence of a pyrenoid. Therefore, we identify strain VKM Al-411 as *D. alpinus*.

A similar morphology was exhibited by strain **VKM Al-401** (Fig. 2H). Cells were solitary, measuring 4–8 (17) $\times$ 2.4–3.5 μm . The length-to-width ratio ranged from 2 to 2.6. The chloroplast was single, parietal, without a pyrenoid. Reproduction occurred by cell division.

According to the phylogenetic analysis, strain VKM Al-401 belonged to the species *Tritostichococcus corticola* (Fig. 6), as it clustered with the authentic strain ST-2, and the level of genetic divergence was 3.1%, corresponding to an intraspecific level (interspecific distances ranged from 25.3% to 36.9%). However, as in the previous case, it differed from the described species (Pröschold and Darienko, 2020) by somewhat smaller cell dimensions and the absence of a pyrenoid as observed under light microscopy.

Strains **VKM Al-400**, **406**, and **407** were morphologically similar to the green microalgae of the genus *Chloroidium* (Darienko et al., 2018) (Fig. 2J). Cells were solitary, broadly ellipsoid to nearly spherical, measuring 7.8–8.5 $\times$ 5.0–6.5 μm . The chloroplast was single, parietal, sometimes faintly lobed. The pyrenoid was naked and faintly visible. Reproduction occurred by 2–4–8 autospores.

According to the results of the ITS2 internal transcribed spacer analysis, strains VKM Al-400, VKM Al-406, and VKM Al-407 belonged to the genus *Chloroidium* and clustered with the authentic strain *C. saccharophilum* SAG 2149 with high statistical support (SH-aLRT–96%; BP–95%; PP–1.00) (Fig. 7). The level of genetic divergence between these VKM strains was 0–0.5%, and between them and SAG 2149 it was 0.5% to 0.9%, corresponding to an intraspecific level. For comparison, the genetic distances between strains of *C. ellipsoideum* and *C. pseudoellipsoideum* were 1.9%, and between *C. pseudoellipsoideum* and *C. lichinum* – 3.4%. Thus, we identify these strains as *C. saccharophilum*.

Based on morphological characteristics, strains **VKM Al-399** and **VKM Al-404** were initially identified as *Bracteacoccus* sp. (Fig. 2F): solitary cells, nearly spherical to spherical, with numerous chloroplasts in mature cells and a parietal chloroplast comprising two lobes in young cells, lacking a pyrenoid. Cell diameter reached 11 μm for strain VKM Al-404 and 13 μm for VKM Al-399. Reproduction occurred by 2–4–8 autospores. Zoosporogenesis was not observed in culture.

According to the ITS2 analysis, strains VKM Al-399 and VKM Al-404 were members of the genus *Pseudomuriella* and clustered with the authentic strain *P. schumacherensis* UTEX 2252 with maximum statistical support (Fig. 8). Genetic distances between

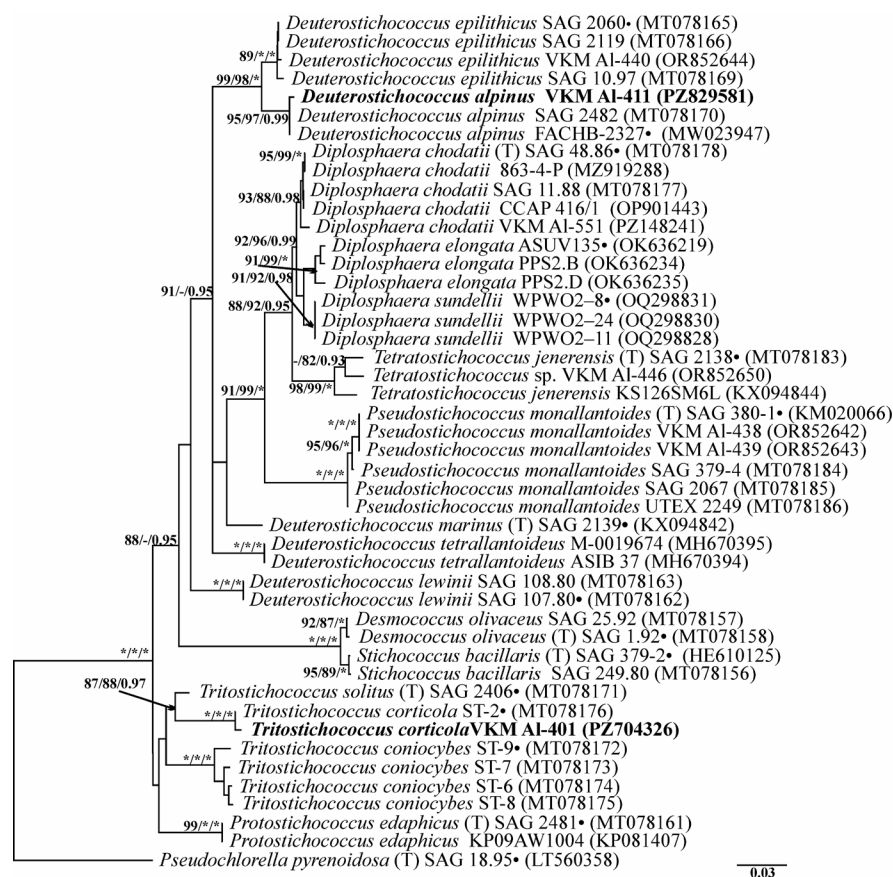


Fig.6. Rooted phylogenetic tree of green algae of the *Stichococcus* clade based on internal transcribed spacer ITS2 sequences (376 bp). Statistical support for tree nodes is indicated as SH-aLRT/BP/PP values. SH-aLRT and BP values below 80% and PP below 0.8 are not shown. Nucleotide substitution model: TPM2u + F + I + G4. Legend: • – authentic strains; (T) – type species; * – maximum statistical support. VKM strains examined in this study are highlighted in bold.

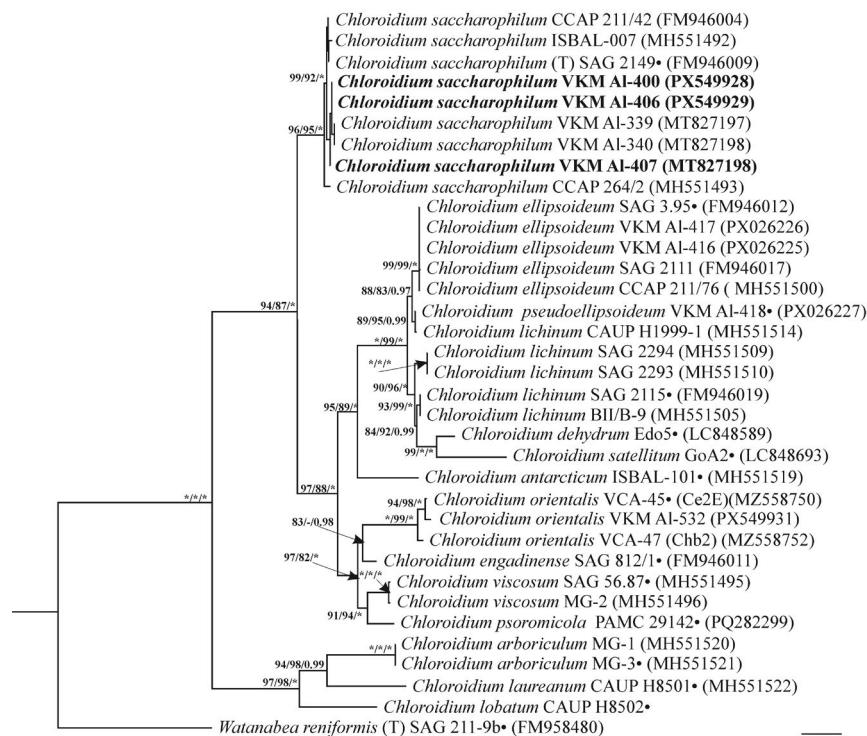
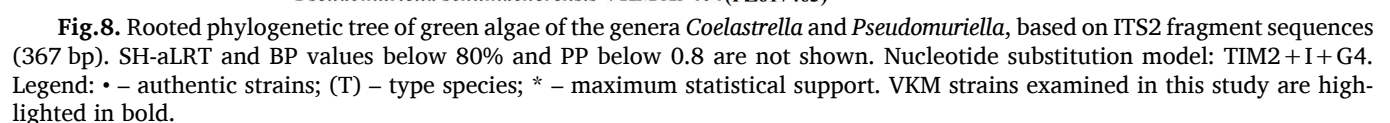


Fig.7. Rooted phylogenetic tree of green algae of the genus *Chloroidium* based on internal transcribed spacer ITS2 sequences (296 bp). Statistical support for tree nodes is indicated as SH-aLRT/BP/PP values. SH-aLRT and BP values below 80% and PP below 0.8 are not shown. Nucleotide substitution model: TIM2 + F + I + G4. Legend: • – authentic strains; (T) – type species; * – maximum statistical support. VKM strains examined in this study are highlighted in bold.



Strain VKM A1-567 was morphologically similar to representatives of the genus *Coelastrella* (Fig. 2G) and was characterized by the following features: cells solitary, nearly spherical or broadly oval, sometimes with polar thickenings, $8.4\text{--}11.5(17) \times 7.3\text{--}10\text{ }\mu\text{m}$; chloro-

VKM AI-567 grouped within the genus *Coelastrella* (Fig. 8) and was assigned to the species *C. affinis*, as it clustered with the authentic strain of this species, VKM AI-356 (SHaLRT-98%; BP-100%; PP-1.00), with a genetic distance of only 0.8%. Within the genus *Coelastrella*, the minimum interspecific threshold between *C. multistriata* and *C. corcontica* based on this marker was 2%. The morphology of VKM AI-567 generally corresponds to the description of *C. affinis* (Krivina et al., 2024), and it is therefore assigned to this species.

3.3. Charophyte algae

Charophycean microalgae were represented by the most frequently encountered genus, *Klebsormidium*. In cultures, long, straight or slightly curved filaments were observed, measuring 7.2–15 µm in width in strains VKM AI-398, 409, and 410, and 6–9 µm in strains VKM AI-402, 403, and 405. Cells contained a single parietal chloroplast with a pyrenoid surrounded by a starch sheath. Strain VKM AI-410, upon culture ageing, was characterized by considerable thickening of the cell walls and the presence of H-shaped fragments.

For the identification of *Klebsormidium* members (order Klebsormidiales, class Klebsormidiophyceae, division Charophyta), the plastid gene *rbcL* was used. This choice is due to the fact that in members of this genus, not only the 18S rRNA gene but also the internal transcribed spacers ITS1 and ITS2 are highly conserved, so their use does not allow clear species delineation, particularly within clade E (Rindi et al., 2011; Mikhailyuk et al., 2015; Samolov et al., 2019). According to the *rbcL* analysis, strains VKM AI-398, VKM AI-409, and VKM AI-410, together with strain K10, clustered with the authentic strain *K. mirabile* VKM AI-436 (SHaLRT–99%; BP–100%; PP–1.00) within clade E according to the classification proposed by Rindi et al. (2011) (Fig. 9).

Genetic differences between strains VKM AI-398, VKM AI-409, and VKM AI-410 were absent, and between this group of strains and the authentic strain *K. mirabile* VKM AI-436 they amounted to 0.9–1%. To interpret genetic distance thresholds, we referred to the minimum interspecific threshold of 2% for the *rbcL* gene in clades F and G, where a detailed taxonomic revision had been previously performed (Mikhailyuk et al., 2015; Samolov et al., 2019). For instance, genetic distances between *K. mucosum* and *K. crenulatum* were 2%, and between *K. karooense* and *K. africanum*–2.2%. It should be noted that within clade E proper, whose true species richness still requires clarification, the minimum interspecific distances between the authentic strains *K. nitens* SAG 13.91 and *K. dissectum* SAG 2417 are only 0.7%. Based on *rbcL* analysis, Kaplan et al. (2012) even suggested that they might actually represent a single species. However, Mikhailyuk et al. (2015), using a polyphasic approach, though assigned them to different species. Nevertheless, nevertheless into account the morphology, which corresponds to the species description (Tukhtaboeva et al., 2025), the tree topology, and the distance thresholds in clades where the taxonomic status of species is unequivocal, at this stage of the study we assign strains VKM AI-398, VKM AI-409, and VKM AI-410 to the species *K. mirabile*.

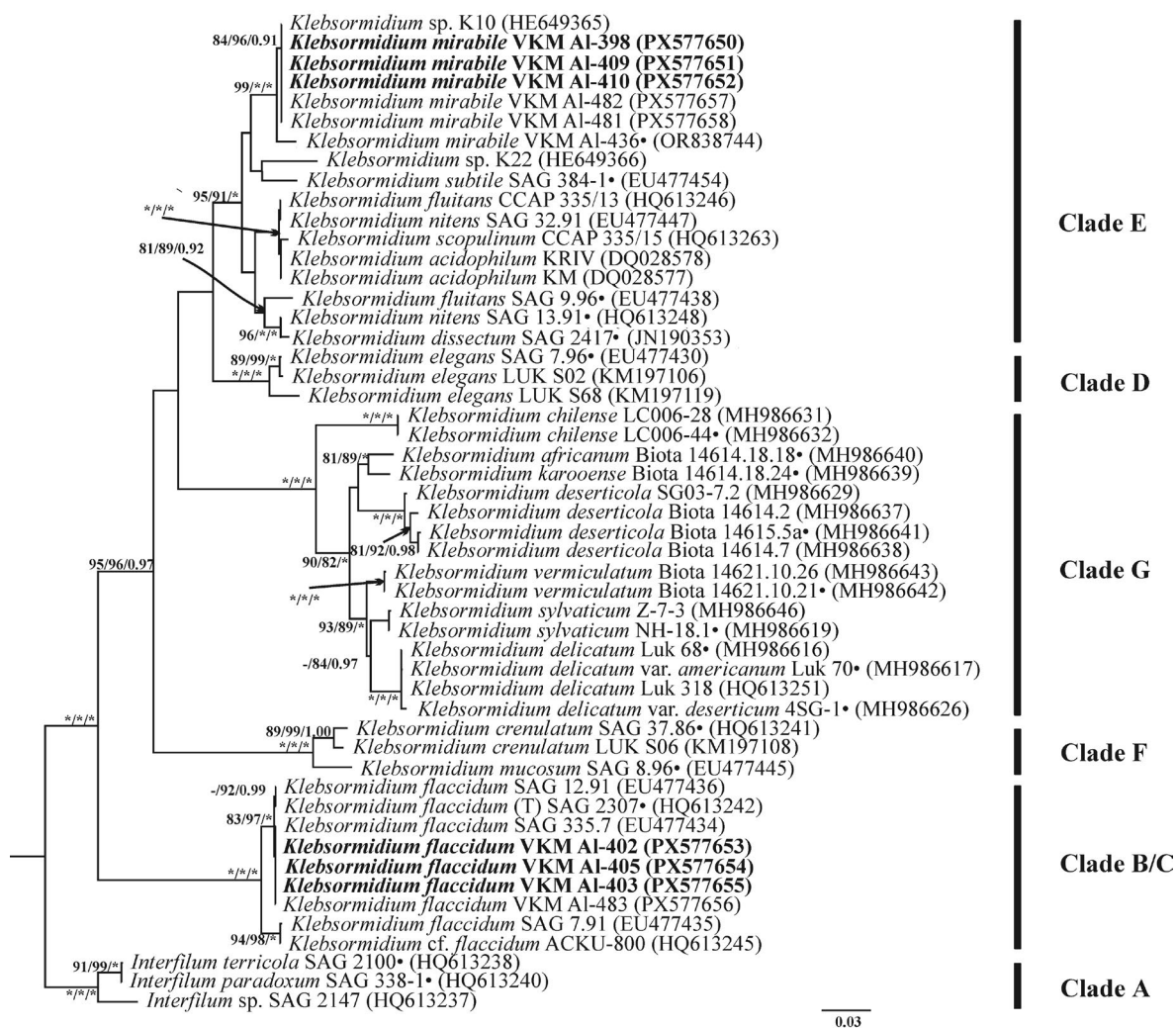


Fig.9. Rooted phylogenetic tree of charophyte algae of the genus *Klebsormidium* based on *rbcL* gene sequences (1217 bp). Statistical support for tree nodes is indicated as SH-aLRT/BP/PP values. SH aLRT and BP values below 80% and PP below 0.8 are not shown. Nucleotide substitution model: TPM2 + F + G4. Legend: • – authentic strains; (T) – type species; * – maximum statistical support. VKM strains examined in this study are highlighted in bold.

Strains VKM Al-402, VKM Al-403, and VKM Al-405 undoubtedly belonged to the species *K. flaccidum*. Their morphology corresponds to the species description (Lokhorst, 1996) (Fig. 2K). They clustered within clade B/C (Fig. 9) and grouped with the authentic strain SAG 2307 of this species with high statistical support (SHaLRT–83%; BP–97%; PP–1.00). Genetic distances between these strains and the authentic strain SAG 2307 ranged from 0 to 0.2%.

The data on the species composition of phototrophic biofilms are of considerable practical importance for the development of targeted biocontrol strategies for building materials. As recent studies have shown, biodegradation is not limited to mechanical deterioration but represents a two-stage process: rapid acid-induced degradation of the mineral matrix, followed by chronic damage mediated by biofilm persistence (Nowicka-Krawczyk et al., 2026). Knowledge of the exact species composition enables prediction of the corrosion mechanism and selection of appropriate protection methods.

From the perspective of biocorrosion, the strains isolated in our study exhibit different aggressive potentials. The most aggressive taxon is *Chloroidium saccharophilum* (found in our study on concrete and metal). According to metabolomic and microscopic data, this species possesses thick cell walls and a pronounced capacity for intensive synthesis of low-molecular-weight organic acids (oxalic, citric, and acetic acids). These acids trigger mechanisms for metal ion chelation and the acid dissolution of the mineral matrix (Nowicka-Krawczyk et al., 2026). Moreover, upon the natural detachment of mature *C. saccharophilum* biofilms, the alga can physically detach mineral grains from the substrate surface, causing irreversible physical damage (Nowicka-Krawczyk et al., 2025).

At the same time, the charophycean algae of the genus *Klebsormidium* (found on concrete, plaster, and metal), which dominated our samples, exhibit a different strategy. Their chemical aggressiveness is considered moderate (Nowicka-Krawczyk et al., 2026); however, they possess high metabolic plasticity and stress tolerance (Holzinger and Pichrtová, 2016). *Klebsormidium* plays a key role in biofilm stabilization: it actively synthesizes extracellular polymeric substances that retain moisture on the material surface, creating a local microclimate. This leads to physical weathering (freeze-thaw cycles and swelling) and maintains the constant humidity required for corrosion processes (Nowicka-Krawczyk et al., 2022; Nowicka-Krawczyk et al., 2025).

Among cyanobacteria, high corrosive activity is exhibited by filamentous forms with mucilage sheaths, such as *Microcoleus autumnalis*, *Phormidesmis priestleyi*, and species of the genus *Leptolyngbya*, found on concrete and metal structures. The presence of mucilaginous sheaths and the ability to synthesize UV-screening pigments (e.g., scytonemin) enable them to survive in the extreme conditions of the urban environment, while continuing to penetrate the substrate and release metabolites that degrade the material (Kala and Pandey, 2021; Keshari et al., 2021). The abundant mucilagi-

nous matrix not only physically retains moisture but also prepares the substrate for subsequent succession by heterotrophic microorganisms (fungi and bacteria), which possess an even higher destructive potential (Nowicka-Krawczyk et al., 2022). Of particular interest is the first-time occurrence of *Cymatolege* sp. on anthropogenic substrates, as revealed by our study. The high ecological plasticity of this genus, previously known mainly from natural habitats, suggests its potential for active colonization and likely involvement in biodeterioration processes, warranting further investigation into its destructive potential.

4. Conclusions

In terrestrial biofilms on artificial substrates in the town of Pushchino, we identified 19 strains of phototrophic microorganisms, including 5 cyanobacterial strains (orders Leptolyngbyales, Nodosilineales, and Oscillatoriales) and 14 strains of eukaryotic microalgae (divisions Chlorophyta and Charophyta). The dominant taxa were members of the genera *Klebsormidium* (Charophyta) and *Chloroidium* (Chlorophyta).

Substrate specificity of the phototrophs was confirmed: the highest taxonomic diversity (almost 60% of the total number of taxa examined) was associated with concrete, a porous and moisture-retaining material. Slightly more than 40% of the taxa were found on metal surfaces. Both substrate types were colonized by cyanobacteria, the green microalgae *Chloroidium saccharophilum* and *Pseudomuriella schumacherensis*, as well as by charophycean algae of the genus *Klebsormidium*. From the remaining substrates (wood, plaster, and cement-sand mortar), one microalgal species each was isolated.

Based on a combination of morphological characters, phylogenetic tree topology, and genetic distances, two strains—*Leptolyngbya* sp. VKM Al-382 and *Cymatolege* sp. VKM Al-383 were identified as candidates for new species, requiring further detailed investigation.

For the first time, a member of the genus *Cymatolege*, previously known only as an associated symbiont of marine sponges, was discovered in a sub-aerial terrestrial biotope on an anthropogenic concrete substrate. This significantly expands the known ecological range and our understanding of the plasticity of this cyanobacterial group.

Deposition of all studied strains in the All-Russian Collection of Microorganisms ensures the availability of biological material for future fundamental and applied research in the fields of biocorrosion and bioprotection of building materials.

Acknowledgements

The authors are grateful to Elena A. Portnaya and to Raisa L. Bakulina, leading engineer, for their assistance in conducting the research.

This work was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Grant agreement No.075-15-2025-485).

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Albertano P. 2012. Cyanobacterial biofilms in monuments and caves. In: Ecology of cyanobacteria II: their diversity in space and time. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 317–343. DOI: [10.1007/978-94-007-3855-3_11](https://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3_11)
- Baele G., Ji X., Hassler G.W. et al. 2025. BEAST X for Bayesian phylogenetic, phylogeographic and phylodynamic inference. *Nature Methods* 22(8): 1653–1656. DOI: [10.1038/s41592-025-02751-x](https://doi.org/10.1038/s41592-025-02751-x)
- Barberousse H. 2006. Etude de la diversité des algues et des cyanobactéries colonisant les revêtements de façade en France et recherche des facteurs favorisant leur implantation [Study of the diversity of algae and cyanobacteria colonizing facade coatings in France and search for factors favoring their establishment]. PhD Thesis, Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, France. (in French)
- Barido-Sottani J., Schwery O., Warnock R.C. et al. 2024. Practical guidelines for Bayesian phylogenetic inference using Markov chain Monte Carlo (MCMC). *Open Research Europe* 3: 204. DOI: [10.12688/openreseurope.16679.1](https://doi.org/10.12688/openreseurope.16679.1)
- Cao S., Yang C., Tian H. et al. 2025. *Deuterostichococcus alpinus* sp. nov. (Chlorophyta; Trebouxiophyceae) from Antarctica. *Czech Polar Reports* 15(1): 38–48. DOI: [10.5817/CPR2025-1-3](https://doi.org/10.5817/CPR2025-1-3)
- Collins R.A., Cruickshank R.H. 2013. The seven deadly sins of DNA barcoding. *Molecular ecology resources* 13(6): 969–975. DOI: [10.1111/1755-0998.12046](https://doi.org/10.1111/1755-0998.12046)
- Crispim C.A., Gaylarde P.M., Gaylarde C.C. 2003. Algal and cyanobacterial biofilms on calcareous historic buildings. *Current Microbiology* 46(2): 79–82. DOI: [10.1007/s00284-002-3815-z](https://doi.org/10.1007/s00284-002-3815-z)
- Darienko T., Lukešová A., Proeschold T. 2018. The polyphasic approach revealed new species of *Chloroidium* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *Phytotaxa* 372(1): 51–66. DOI: [10.11646/phytotaxa.372.1.4](https://doi.org/10.11646/phytotaxa.372.1.4)
- Davydov D., Vilnet A. 2022. Review of the cyanobacterial genus *Phormidesmis* (Leptolyngbyaceae) with the description of *Apatinema* gen. nov. *Diversity* 14(9): 731. DOI: [10.3390/d14090731](https://doi.org/10.3390/d14090731)
- D’Orazio M., Quagliarini E. 2023. Influence of the wind driving rain on algae growth on building facades. A prediction based on neural networks. DOI: [10.2139/ssrn.4517307](https://doi.org/10.2139/ssrn.4517307)
- Fučíková K., Rada J.C., Lewis L.A. 2011. The tangled taxonomic history of *Dictyococcus*, *Bracteacoccus* and *Pseudomuriella* (Chlorophyceae, Chlorophyta) and their distinction based on a phylogenetic perspective. *Phycologia* 50(4): 422–429. DOI: [10.2216/10-69.1](https://doi.org/10.2216/10-69.1)
- Galindo-Alcázar O., Medina-Jaritz N.B., Garduño-Solórzano G. et al. 2018. Cyanobacteria and microalgae from surface biofilm from Malinalco, Mexico, an archaeological site. *Polibotánica* 45: 131–146. DOI: [10.18387/polibotanica.45.10](https://doi.org/10.18387/polibotanica.45.10)
- Gaylarde C.C. 2020. Influence of environment on microbial colonization of historic stone buildings with emphasis on cyanobacteria. *Heritage* 3(4): 1469–1482. DOI: [10.3390/heritage3040081](https://doi.org/10.3390/heritage3040081)
- Guiry M.D., Guiry G.M. 2025. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. URL: <http://www.algaebase.org>
- Hoang D.T., Chernomor O., Von Haeseler A. et al. 2018. UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular Biology and Evolution* 35(2): 518–522. DOI: [10.1093/molbev/msx281](https://doi.org/10.1093/molbev/msx281)
- Holzinger A., Pichrtová M. 2016. Abiotic stress tolerance of charophyte green algae: new challenges for omics techniques. *Frontiers in Plant Science* 7: 678. DOI: [10.3389/fpls.2016.00678](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00678)
- Huaman Y.N.C., Villanueva R.S., Huanca O.L.C. 2025. Biopelículas de microalgas y cianobacterias, pioneras en la colonización y deterioro del monumento de Saqsaywaman [Microalgae and cyanobacteria biofilms, pioneers in the colonization and deterioration of the Saqsaywaman monument]. *Ambiente, Comportamiento y Sociedad* 8(1): 1–20. DOI: [10.51343/racs.v8i1.1503](https://doi.org/10.51343/racs.v8i1.1503) (in Spanish)
- Johansen J.R., Kovacik L., Casamatta D.A. et al. 2011. Utility of 16S-23S ITS sequence and secondary structure for recognition of intrageneric and intergeneric limits within cyanobacterial taxa: *Leptolyngbya corticola* sp. nov. (Pseudanabaenaceae, Cyanobacteria). *Nova Hedwigia* 92(3): 283. DOI: [10.1127/0029-5035/2011/0092-0283](https://doi.org/10.1127/0029-5035/2011/0092-0283)
- Kala R., Pandey V.D. 2021. Biocolonization and biodegradation of monuments by cyanobacteria. *Plant Archives* 21(1): 1531–1536.
- Kaplan F., Lewis L.A., Wastian J. et al. 2012. Plasmolysis effects and osmotic potential of two phylogenetically distinct alpine strains of *Klebsormidium* (Streptophyta). *Protoplasma* 249(3): 789–804. DOI: [10.1007/s00709-011-0324-z](https://doi.org/10.1007/s00709-011-0324-z)
- Katoh K., Rozewicki J., Yamada K.D. 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics* 20(4): 1160–1166. DOI: [10.1093/bib/bbx108](https://doi.org/10.1093/bib/bbx108)
- Keshari N., Adhikary S.P. 2014. Diversity of cyanobacteria on stone monuments and building facades of India and their phylogenetic analysis. *International Biodeterioration & Biodegradation* 90: 45–51. DOI: [10.1016/j.ibiod.2014.01.014](https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.01.014)
- Keshari N., Das S.K., Adhikary S.P. 2021. Colonization and survival of a stress tolerant cyanobacterium on a heritage monument of Santiniketan, India. *International Biodeterioration & Biodegradation* 164: 105294. DOI: [10.1016/j.ibiod.2021.105294](https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2021.105294)
- Konstantinou D., Voultsiadou E., Panteris E. et al. 2021. Revealing new sponge-associated cyanobacterial diversity: Novel genera and species. *Molecular phylogenetics & evolution* 155: 106991. DOI: [10.1016/j.ympev.2020.106991](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106991)
- Krivina E., Sinetova M., Zadneprovskaya E. et al. 2024. The genus *Coelastrella* (Chlorophyceae, Chlorophyta): molecular species delimitation, biotechnological potential, and description of a new species *Coelastrella affinis* sp. nov., based on an integrative taxonomic approach. *Antonie van Leeuwenhoek* 117(113): 1–23. DOI: [10.1007/s10482-024-02008-1](https://doi.org/10.1007/s10482-024-02008-1)
- Lokhorst G.M. 1996. Comparative taxonomic studies on the genus *Klebsormidium* (Charophyceae) in Europe. *Cryptogamie Studies* 5: 1–132.
- Macedo M.F., Vilarigues M.G., Coutinho M.L. 2021. Biodeterioration of glass-based historical building materials: an overview of the heritage literature from the 21st century. *Applied Sciences* 11(20): 9552. DOI: [10.3390/app11209552](https://doi.org/10.3390/app11209552)
- Mikhailyuk T.I., Vinogradova O.M., Glaser K. et al. 2018. Diversity of terrestrial algae of Cape Kazantip (the Sea of Azov, Ukraine) and some remarks on their phylogeny and ecology. *International Journal on Algae* 20(4): 313–338. DOI: [10.1615/InterJAlgae.v20.i4.10](https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v20.i4.10)
- Mikhailyuk T., Glaser K., Holzinger A. et al. 2015. Biodiversity of *Klebsormidium* (Streptophyta) from alpine biological soil crusts (Alps, Tyrol, Austria, and Italy). *Journal of Phycology* 51(4): 750–767. DOI: [10.1111/jpy.12316](https://doi.org/10.1111/jpy.12316)
- Minh B.Q., Schmidt H.A., Chernomor O. et al. 2020. IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Molecular Biology and Evolution* 37(5): 1530–1534. DOI: [10.1093/molbev/msaa015](https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015)
- Nowicka-Krawczyk P., Komar M., Gutarowska B. 2022. Towards understanding the link between the deterioration of building materials and the nature of aerophytic green

algae. Science of the Total Environment 802: 149856. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2021.149856](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149856)

Nowicka-Krawczyk P., Komar M., Gutarowska B. et al. 2025. Growth strategy of aerial green algae on building materials in the temperate climate zone and its relevance to substrate biodeterioration. Scientific Reports 16(1): 2167. DOI: [10.1038/s41598-025-31926-x](https://doi.org/10.1038/s41598-025-31926-x)

Nowicka-Krawczyk P., Komar M., Gutarowska B. et al. 2026. Assessing the potential for biogeochemical deterioration of building materials by green algae in temperate climate via an integrated metabolomic approach. Scientific Reports. DOI: [10.1038/s41598-026-58452-8](https://doi.org/10.1038/s41598-026-58452-8)

Piontek M., Lechów H. 2014. Aerophytic cyanobacteria as a factor in the biodegradation of technical materials on external building walls. Civil and Environmental Engineering Reports 13: 109–119. DOI: [10.2478/ceer-2014-0019](https://doi.org/10.2478/ceer-2014-0019)

Proeschold T., Darienko T. 2020. The green puzzle *Stichococcus* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta): New generic and species concept among this widely distributed genus. Phytotaxa 441(2): 113–142. DOI: [10.11646/phytotaxa.441.2.2](https://doi.org/10.11646/phytotaxa.441.2.2)

Rambaut A., Drummond A.J., Xie D. et al. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. Systematic Biology 67(5): 901–904. DOI: [10.1093/sysbio/syy032](https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032)

Reboah P., Bolou-Bi C.B., Nowak S. et al. 2023. Influence of climatic factors on cyanobacteria and green algae development on building surface. PLOS ONE 18(3): e0282140. DOI: [10.1371/journal.pone.0282140](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0282140)

Rindi F., Mikhailyuk T.I., Sluiman H.J. et al. 2011. Phylogenetic relationships in *Interfilum* and *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) Molecular Phylogenetics and Evolution 58(2): 218–231. DOI: [10.1016/j.ympev.2010.11.030](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.11.030)

Samad L.K., Adhikary S.P. 2008. Diversity of micro-algae and cyanobacteria on building facades and monuments in India. Algae 23(2): 91–99. DOI: [10.4490/algae.2008.23.2.091](https://doi.org/10.4490/algae.2008.23.2.091)

Samolov E., Mikhailyuk T., Lukešová A. et al. 2019. Usual alga from unusual habitats: Biodiversity of *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) from the phylogenetic superclade G isolated from biological soil crusts. Molecular Phylogenetics and Evolution 133: 236–255. DOI: [10.1016/j.ympev.2018.12.018](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.12.018)

Sayers E.W., Beck J., Bolton E.E. et al. 2021. Database resources of the National Center for Biotechnology

Information. Nucleic Acids Research 49(D1): D10–D17.

Scheerer S., Ortega-Morales O., Gaylarde C. 2009. Microbial deterioration of stone monuments – an updated overview. Advances in Applied Microbiology 66: 97–139. DOI: [10.1016/S0065-2164\(08\)00805-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)00805-8)

Shimodaira H. 2002. An approximately unbiased test of phylogenetic tree selection. Systematic Biology 51(3): 492–508. DOI: [10.1080/10635150290069913](https://doi.org/10.1080/10635150290069913)

Shirakawa M.A., Loh K., John V.M. et al. 2012. Resistance of cyanobacterial fouling on architectural paint films to cleaning by water jet. Current Microbiology 64(4): 312–316. DOI: [10.1007/s00284-011-0072-5](https://doi.org/10.1007/s00284-011-0072-5)

Sommer V., Mikhailyuk T., Glaser K. et al. 2020. Uncovering unique green algae and cyanobacteria isolated from biocrusts in highly saline potash tailing pile habitats, using an integrative approach. Microorganisms 8(11): 1667. DOI: [10.3390/microorganisms8111667](https://doi.org/10.3390/microorganisms8111667)

Strunecký O., Elster J., Komárek J. 2010. Phylogenetic relationships between geographically separate *Phormidium* cyanobacteria: is there a link between north and south polar regions? Polar Biology 33(10): 1419–1428. DOI: [10.1007/s00300-010-0834-8](https://doi.org/10.1007/s00300-010-0834-8)

Tamura K., Stecher G., Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. Molecular Biology and Evolution 38(7): 3022–3027. DOI: [10.1093/molbev/msab120](https://doi.org/10.1093/molbev/msab120)

Taton A., Grubisic S., Brambilla E. et al. 2003. Cyanobacterial diversity in natural and artificial microbial mats of Lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica): a morphological and molecular approach. Applied and Environmental Microbiology 69(9): 5157–5169.

Tukhtaboeva Y., Krivina E., Redkina V. et al. 2025. Species delimitation in the genus *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Charophyta), including description of *Klebsormidium mirabile* sp. nov. with high content of polyunsaturated fatty acids. PhytoKeys 266: 53. DOI: [10.3897/phytokeys.266.158514](https://doi.org/10.3897/phytokeys.266.158514)

White T.J., Bruns T., Lee S. et al. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J. (Eds.), PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. San Diego: Academic Press, pp. 315–322. DOI: [10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1)

Наземные фототрофные биопленки искусственных субстратов: разнообразие цианобактерий и микроводорослей в условиях малого города (г. Пущино)

Оригинальная статья

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Редькина В.В.*, Кривина Е.С., Темралеева А.Д.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Проспект науки, 5, г. Пущино, 142290, Россия

АННОТАЦИЯ. Цель работы заключалась в изучении таксономического разнообразия цианобактерий и эукариотических микроводорослей, формирующих фототрофные биопленки на искусственных субстратах в условиях малого города. В ходе исследования с различных строительных материалов (бетон, цементно-песчаная смесь, штукатурка, металл, древесина) городских зданий и сооружений было изолировано и охарактеризовано 19 штаммов фототрофных микроорганизмов. Молекулярно-филогенетический и морфологический анализы позволили охарактеризовать 5 штаммов цианобактерий и 14 штаммов микроводорослей, среди которых доминирующее положение занимают роды *Klebsormidium* и *Chloroidium*. Подтверждена субстратная специфичность фототрофов: наибольшее таксономическое богатство приурочено к пористым и влагоемким материалам (бетон), а также металлическим поверхностям. Особый интерес представляют два штамма – *Leptolyngbya* sp. VKM A1-382 и *Cymatolege* sp. VKM A1-383, являющиеся кандидатами в новые для науки виды. Впервые представитель рода *Cymatolege*, ранее известного исключительно как ассоциированный симбионт морских губок, выявлен в наземном биотопе на антропогенном субстрате, что существенно расширяет знания об экологической пластичности данной группы. Все полученные культуры депонированы в коллекцию микроорганизмов, что создает базу для дальнейших фундаментальных и прикладных исследований в области биокоррозии и разработки методов биозащиты строительных материалов.

Ключевые слова: филогения, 16S рРНК, 16S-23S ITS, ITS2, *rbcL*, Всероссийская коллекция микроорганизмов

Для цитирования: Редькина В.В., Кривина Е.С., Темралеева А.Д. Наземные фототрофные биопленки искусственных субстратов: разнообразие цианобактерий и микроводорослей в условиях малого города (г. Пущино) // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 437-469. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-437

1. Введение

Поверхности городских зданий и сооружений, выполненные из различных строительных материалов (бетона, натурального камня, штукатурки и даже стекла), представляют собой специфические экосистемы, подверженные постоянному воздействию абиотических и биотических факторов (Macedo et al., 2021; Nowicka-Krawczyk et al., 2022; Nuaman et al., 2025). Первичными колонизаторами этих инертных субстратов выступают фототрофные микроорганизмы – цианобактерии и эукариотические микроводоросли, которые за счет фотосинтеза формируют органическую базу для последующего заселения гетеротрофными бактериями и грибами

(Crispim et al., 2003; Albertano, 2012; Keshari et al., 2021).

Таксономический состав и доминирование фототрофов в биопленках детерминированы климатическими условиями и природой субстрата. Установлено, что в регионах с умеренным климатом на фасадах чаще доминируют эукариотические зеленые водоросли, тогда как в тропических и субтропических зонах, а также на поверхностях, подверженных экстремальной инсоляции и высыханию, доминантами выступают цианобактерии (Crispim et al., 2003; Barberousse, 2006; Samad and Adhikary, 2008; Gaylarde, 2020). При этом пористость и влагудерживающая способность материала (например, разница между цементными растворами и извест-

*Автор для переписки. Адрес e-mail: kalmykova.v.v@mail.ru (В.В. Редькина)

Поступила: 02 июля 2026;

Принята после доработки: 30 июля 2026;

Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



няком) напрямую влияют на преобладание нитчатых или коккоидных форм, а также на соотношение водорослей и цианобактерий (Crispim et al., 2003; Reboah et al., 2023).

Выживание фототрофов на открытых фасадах требует специализированных адаптаций к УФ-радиации, перепадам температур и длительному обезвоживанию (Albertano, 2012; Kala and Pandey, 2021; Keshari et al., 2021). Для защиты от ультрафиолета многие цианобактерии синтезируют экранирующие пигменты, такие как сцитонемин и микоспорин-подобные аминокислоты (Albertano, 2012; Keshari and Adhikary, 2014; Gaylarde, 2020). Ключевую роль в адаптации к засухе и адгезии к субстрату играет синтез внеклеточных полимерных веществ (EPS). EPS формируют защитный матрикс биопленки, удерживают влагу, создавая локальный микроклимат, и обеспечивают прочное приклепление клеток к минеральной матрице (Piontek and Lechów, 2014; Galindo-Alcázar et al., 2018; Kala and Pandey, 2021; Huaman et al., 2025).

Колонизация фототрофами приводит к двум основным типам повреждений: эстетическим и структурным. Эстетическая деградация проявляется в виде изменения цвета фасадов (появление зеленых, черных, красных или коричневых пятен) из-за наличия фотосинтетических пигментов, каротиноидов и сцитонемина (Shirakawa et al., 2012; Gaylarde, 2020; Keshari et al., 2021). Структурное повреждение обусловлено как физическим давлением, возникающим при циклическом набухании и сокращении матрикса EPS во время циклов увлаж-

нения – высыхания, так и биохимическим воздействием: секрецией органических кислот и хелатирующих агентов, которые растворяют минеральную матрицу субстрата (Scheerer et al., 2009; Piontek and Lechów, 2014; Nowicka-Krawczyk et al., 2022; Huaman et al., 2025).

Несмотря на то, что исторически исследования фокусировались преимущественно на объектах культурного наследия (Scheerer et al., 2009; Albertano, 2012), проблема колонизации фасадов современных городских зданий приобретает не меньшую экономическую, эстетическую и практическую значимость (D’Orazio and Quagliarini, 2023; Reboah et al., 2023).

Актуальность исследования обуславливает цель данной работы – изучить разнообразие цианобактерий и водорослей в фототрофных биопленках искусственных субстратов в условиях малого города (г. Пущино).

2. Материалы и методы исследования

2.1. Пробоотбор

Для исследования в мае 2022 г. были стерильно отобраны образцы визуально заметных фототрофных биоплёнок, формирующихся на различных искусственных субстратах, в г. Пущино Московской области (54°50' N 37°37' E): поверхности бетонного цоколя и ступеней (4 пробы), кирпичной стены (2), металлических (3) и деревянных (1) столбов (Рис. 1).



Рис.1. Места отбора образцов биопленок. А – ступеньки подъезда; Б – оштукатуренный цоколь жилого дома; В – кирпичная стена, шов; Г – низ металлической опоры козырька; Д – металлическая опора козырька; Е – деревянная опора козырька.

2.2. Выделение, культивирование и очистка штаммов

Образцы биопленок были посеяны на твердую питательную среду BG11 с азотом и без и многократно пересеяны до получения альгологически чистых культур. Культивирование штаммов осуществлялось в климатостате KC-200 (Смоленское СКТБ СПУ, Россия) при стандартных условиях (температура +23°C, свет 60–75 μмоль фотонов м⁻² с⁻¹, фотопериод 12 ч). Все изученные штаммы были депонированы в Альгологическую коллекцию ACSSI (ИФХиБПП РАН, г. Пущино), а затем переданы во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов (ВКМ, ИБФМ РАН, г. Пущино).

2.3. Морфологический анализ

Образцы биопленок изучали в день пробоотбора с помощью светового микроскопа Leica DM750 (Германия). Наблюдение морфологических признаков и жизненных циклов штаммов, выделенных из биопленок, проводили на микроскопе Carl Zeiss Axio Scope A1 (Германия) в ЦКП ИФХиБПП с помощью интерференционно-контрастной микроскопии. Результаты были задокументированы фотографиями, снятыми с помощью цветной цифровой камеры Carl Zeiss MRc 5 (Германия). Сроки наблюдения составляли от 2 недель до 6 месяцев (столь длительный срок связан с медленным ростом цианобактериальных культур). При морфологической идентификации штаммов цианобактерий учитывали следующие признаки: организацию таллома, присутствие слизи и ее цвет, наличие акинет и гетероцит, размер и форму вегетативных клеток и др. В случае эукариотических водорослей отмечали: тип организации таллома, форму и размеры клеток, наличие и толщину слизистых оболочек, количество и тип хлоропластов, наличие пиреноида и структуру крахмальной обертки, способы размножения и др. Для оценки размеров клеток проводили не менее 100 измерений. За основу в данной

работе выбрана классификация водорослей, приведенная в Международной электронной базе данных AlgaeBase (Guiry and Guiry, 2025).

2.4. Экстракция ДНК, амплификация, секвенирование

Выделение тотальной ДНК осуществляли с помощью колоночного набора DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, США), следуя протоколу производителя. Для амплификации использовали готовую смесь для ПЦР Screen Mix-HS (Евроген, Россия). Праймеры и условия для амплификации гена 16S рРНК и спейсера 16S-23S ITS для цианобактерий (Taton et al., 2003; Strunecký et al., 2010), ITS2 для зеленых микроводорослей (White et al., 1990) и *rbcL* для харофитовых водорослей указаны в Таблице 1. Детекцию целевых ПЦР-продуктов проводили электрофоретически в 1%-ном агарозном геле (краситель SYBR Safe). Для дальнейшей очистки ампликонов из геля использовали набор Cleanup S-Cap (Евроген, Россия). Секвенирование нуклеотидных последовательностей осуществляли на базе ЗАО Евроген (Россия).

2.5. Молекулярно-филогенетический анализ

Редактирование и сборку консенсусной последовательности проводили с помощью визуального сопоставления прямой и обратной хроматограмм в программе BioEdit. Для молекулярно-генетической идентификации штаммов цианобактерий и микроводорослей был осуществлен поиск гомологии нуклеотидных последовательностей исследуемых маркеров по алгоритму BLASTn в GenBank NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) (Sayers et al., 2021). Отбор последовательностей осуществляли исходя из критериев максимального родства, качества прочтения (без вырожденных и неизвестных нуклеотидов), длины прочтения и принадлежности к типовым видам и коллекционным аутентичным штаммам.

Таблица 1. Праймеры и условия амплификации целевых генов и спейсеров.

Маркер	Праймеры	Условия
16S рРНК + ITS	27F: AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 359F*: GGGGATTTTCCGCAATGGG 1407F*: TGACACACCGCCCGTC	94°C – 5 мин; 94°C – 30 сек; 55°C – 30 сек; 72°C – 3 мин, 40 циклов; 72°C – 7 мин.
	781R*: GACTACTGGGGTATCTAATCCCATTT 1467R*: AAGGAGGTGATCCAGCCACA 23S30R: CTTCGCCTCTGTGTCCTAGGT	
ITS2	ITS3F: GCATCGATGAAGAACGCAGC ITS4R: TCCTCCGCTTATTGATATGC	95°C – 3 мин.; 95°C – 30 сек; 57.6°C – 30 сек; 72°C – 1 мин, 35 циклов; 72°C – 10 мин.
<i>rbcL</i>	KF2: ACTTACTACACTCCTGATTATGA	95°C – 2 мин.; 94°C – 1 мин; 47°C – 1 мин; 72°C – 3 мин, 40 циклов; 72°C – 8 мин.
	KR2: GGTTGCCTTCGCGAGCTA	

Примечание: * отмечены внутренние секвенирующие праймеры.

Множественное выравнивание было выполнено в программе MAFFT ver. 7 (Katoh et al., 2019). Выбор нуклеотидных замен осуществляли с помощью программы IQ-TREE v. 2.2 (Minh et al., 2020), ориентируясь на минимальное значение BIC критерия (Bayesian information criterion) (Hoang et al., 2018). Оценка топологии ветвей с помощью теста SH-aLRT была реализована в блоке построения филогенетического дерева uGENE (Shimodaira, 2002). Реконструкцию филогенетических взаимосвязей с помощью метода максимального правдоподобия (ML) осуществляли в программе IQ-TREE v. 2.2. Для построения филогенетических деревьев методом Байеса (BI – Bayesian Inference) была использована программа BEAST v10.5.0 (Baele et al., 2025) в соответствии с рекомендациями Barido-Sottani с соавт. (2024). В качестве модели молекулярных часов использовались некоррелированные расслабленные часы (uncorrelated relaxed clock) с логнормальным распределением скоростей замен по ветвям, в качестве популяционной модели – модель «рождения-гибели видов» (Birth-Death Process). Анализ проводился с использованием метода марковских цепей Монте-Карло (MCMC). Запуск производился на 100 млн. итераций для каждой исследуемой группы микроорганизмов. Сэмплирование параметров и деревьев выполнялось каждые 10 000 итераций после отбрасывания первых 25% поколений в качестве burn-in. Сходимость запусков и достаточная выборка были проверены в программе Tracer v1.7. (Rambaut et al., 2018), обеспечивая достижение всеми параметрами эффективного размера выборки (ESS) > 200. Филогенетические деревья были визуализированы в программе FigTree v. 1.3.1. В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT (SH-aLRT – Shimodaira-Hasegawa-like approximate likelihood ratio test), бутстреп ML (BP – bootstrap percentages) и апостериорных вероятностей BI (PP – posterior probabilities). Различия между нуклеотидными последовательностями охарактеризовали с помощью генетических дистанций, мерой которых являлся процент несопадений нуклеотидов при попарном сравнении выравненных последовательностей, рассчитанный в программе MEGA 11 (Tamura et al., 2021). При этом учитывали, что пороги генетических дистанций не являются универсальными для различных таксонов, а являются производными от топологии дерева, параметров эволюционной модели, таксономического состава, полноты и репрезентативности конкретного набора последовательностей (Collins and Cruickshank, 2013). Предсказание вторичной структуры консервативных шпилек D1-D1' и BoxB спейсера ITS 16S–23S осуществляли с использованием сервиса RNAfold (<http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi>, дата обращения 20 июня 2026).

3. Результаты и обсуждение

В результате выполненных работ было изолировано 19 штаммов цианобактерий и микроводорослей (Таблица 2, Рис. 2).

3.1. Цианобактерии

Цианобактерии были представлены 5 штаммами из трех порядков – *Leptolyngbyales*, *Nodosilineales* и *Oscillatoriales*.

Штамм VKM Al-380 характеризуется следующими морфологическими признаками: нити длинные, волнистые, 3–4.3 мкм шириной, в тонких бесцветных слизистых чехлах (Рис. 2А). Иногда наблюдается ложное ветвление. Трихомы оливково-зеленого цвета, 2–2.9 мкм шириной, изополярны или слегка гетерополярны (в более старых культурах), сужены у поперечных перегородок. Клетки от очень коротких (от 1 мкм) до изодиаметрических, апикальная клетка закруглена. Изредка встречаются некридиальные клетки.

На 16S рРНК дереве штамм кластеризуется с представителями клады *Leptolyngbya sensu stricto* с высокой статистической поддержкой (Рис. 3). Генетические дистанции между VKM Al-380 и аутентичными штаммами разных видов внутри клады составляют 0.4–1.1%. Этот уровень соответствует межвидовому для этой клады, поскольку дистанции между аутентичными штаммами видов *L. boryana*, *L. corticola*, *L. tenerrima* и *L. angustata* варьируют в диапазоне 0.1–0.9%. Вторичная структура шпильки D1-D1' спейсера 16S-23S ITS штамма VKM Al-380 полностью идентична структуре *L. corticola* (Рис. 4) и отличается от *L. boryana* и *L. tenerrima* нуклеотидным составом концевой петли. Вторичная структура шпильки boxB штамма VKM Al-380 уникальна по сравнению с уже описанными видами рода *Leptolyngbya* (Рис. 5).

Морфология штамма VKM Al-380 наиболее близка к описанию *L. corticola* (Johansen et al., 2011) по ряду признаков: толщина трихомов, их некоторая гетерополярность в стареющих культурах, а также наличие некридиальных клеток. Однако значения генетических дистанций, топология дерева 16S рРНК и уникальность вторичной структуры шпильки boxB спейсера 16S-23S ITS не позволяют с уверенностью утверждать, что наш штамм является представителем данного вида. Поэтому мы идентифицируем VKM Al-380 как *Leptolyngbya* sp.

Штамм VKM Al-382 входит в сестринскую группу на дереве 16S рРНК (Рис. 3). Для штамма характерны прямые или изогнутые нити 2.3–2.6 мкм шириной, в очень тонких, почти незаметных, бесцветных слизистых чехлах, без ветвлений (Рис. 2Б). Трихомы оливково-зеленого цвета, 2–2.4 мкм шириной, изополярные, сужены у поперечных перегородок. Клетки изодиаметрические или длина клеток слегка меньше/больше ширины. Апикальная клетка конусовидная с закругленным концом. Некридиальные клетки не наблюдали.

Между видами рода *Leptolyngbya*, не входящими в кладу *Leptolyngbya sensu stricto*, – *L. alkalina*, *L. koreana*, *L. vaporiphila*, *L. terrestris*, *L. salina* и *L. hodgsonii*, генетические дистанции варьируют в диапазоне 1.4–7%. Дистанции между штаммом VKM Al-382 и перечисленными видами составляют 3.0–5.9%, т.е. соответствуют межвидовым. Таким образом, VKM Al-382 является кандидатом в новый, нео-

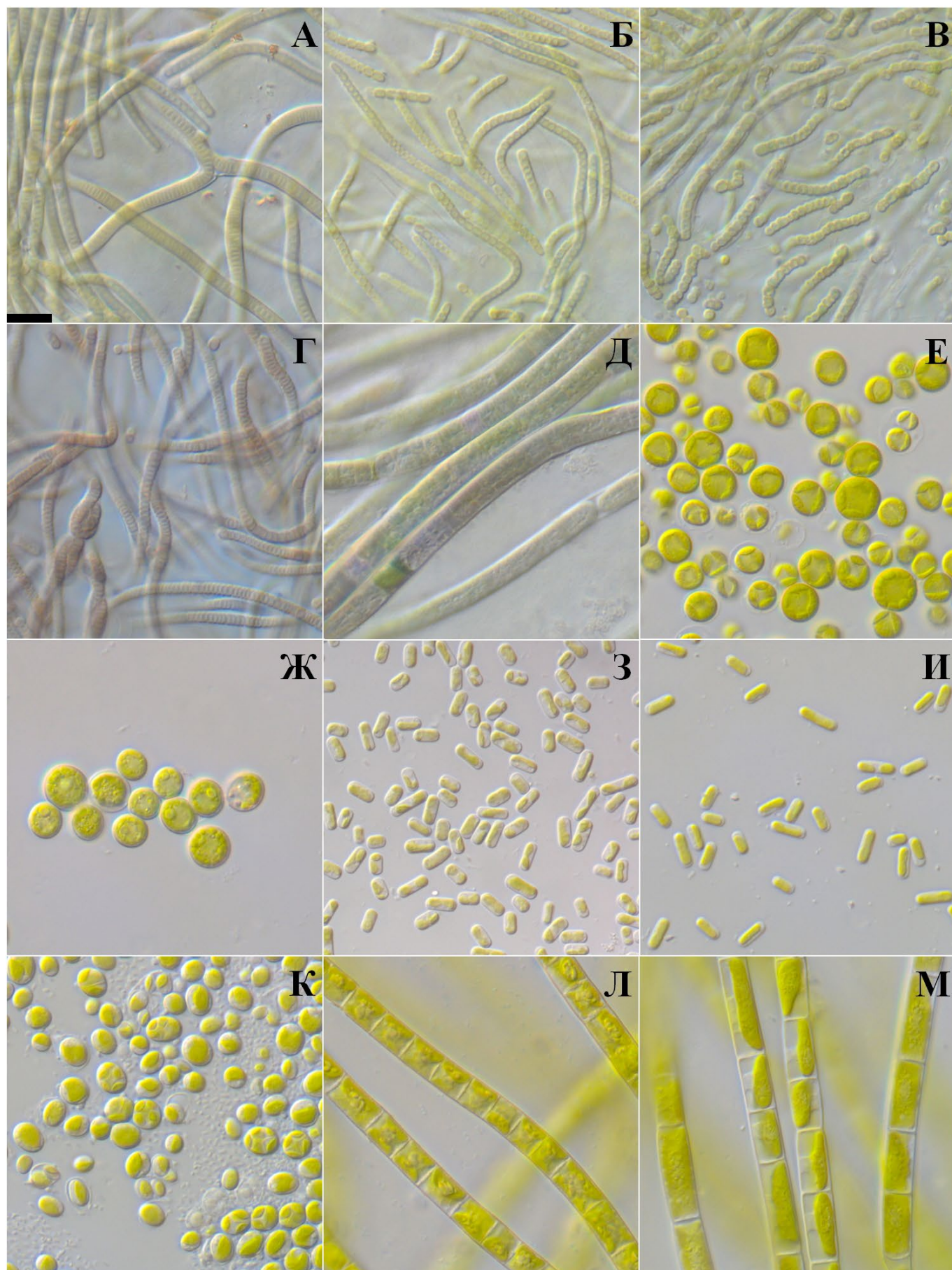


Рис.2. Микрофотографии штаммов цианобактерий и эукариотических микроводорослей, изолированных из биопленок на искусственных субстратах города Пущино. А – *Leptolyngbya* sp. VKM AI-380; Б – *Leptolyngbya* sp. VKM AI-382; В – *Phormidesmis priestleyi* VKM AI-385; Г – *Cymatolege* sp. VKM AI-383; Д – *Microcoleus autumnalis* VKM AI-384; Е – *Pseudomuriella schumacherensis* VKM AI-399; Ж – *Coelastrella affinis* VKM AI-567; З – *Tritostichococcus corticola* VKM AI-401; И – *Deuterostichococcus alpinus* VKM AI-411; К – *Chloroidium saccharophilum* VKM AI-406; Л – *Klebsormidium flaccidum* VKM AI-402; М – *Klebsormidium mirabile* VKM AI-409. Шкала, обозначенная на фотографии А, является общей для всех фотографий и равна 10 мкм.

Таблица 2. Штаммы цианобактерий и эукариотических микроводорослей, изолированные из биопленок на искусственных субстратах города Пущино.

№	Таксон	Коллекционный штамм, VKM Al-	Место изоляции, субстрат
Отдел Cyanobacteriophyta класс Cyanophyceae порядок Leptolyngbyales			
1	<i>Leptolyngbya</i> sp.	380	Цоколь дома, мкр. Г, д. 26, 1 подъезд, материал - бетон
2	<i>Leptolyngbya</i> sp.	382	Цоколь дома, мкр. Г, д. 26, 1 подъезд, материал - бетон
3	<i>Phormidesmis priestleyi</i>	385	Низ металлической опоры козырька, мкр. Г, д. 6, 2 подъезд (Рис. 1Г), материал - металл
порядок Nodosilineales			
4	<i>Cymatolege</i> sp.	383	Ступеньки, мкр. Г, д. 28, 1 подъезд (Рис. 1А), материал - бетон
порядок Oscillatoriales			
5	<i>Microcoleus autumnalis</i>	384	Низ металлической опоры козырька, мкр. Г, д. 6, 2 подъезд, материал - металл
Отдел Chlorophyta класс Trebouxiophyceae порядок Prasiolales			
6	<i>Tritostichococcus corticola</i>	401	Ступеньки, мкр. Г, д. 28, 1 подъезд, материал - бетон
7	<i>Deutrostichococcus alpinus</i>	411	Деревянная опора козырька, БТИ (Рис. 1Е), материал - дерево
порядок Watanabeales			
8	<i>Chloroidium saccharophilum</i>	400	Ступеньки, мкр. Г, д. 28, 1 подъезд, материал - бетон
9	<i>Chloroidium saccharophilum</i>	406	Металлическая опора козырька, БТИ (Рис. 1Д), материал - металл
10	<i>Chloroidium saccharophilum</i>	407	Ступеньки, мкр. Г, д. 28, 1 подъезд, материал - бетон
класс Chlorophyceae порядок Sphaeropleales			
11	<i>Pseudomuriella schumacherensis</i>	399	Ступеньки, мкр. Г, д. 28, 1 подъезд, материал - бетон
12	<i>Pseudomuriella schumacherensis</i>	404	Низ металлической опоры козырька, мкр. Г, д. 6, 2 подъезд, материал - металл
13	<i>Coelastrella affinis</i>	567	Кирпичная стена, шов, мкр. АБ (Рис. 1В), материал – цементно-песчаная смесь
Отдел Charophyta класс Klebsormidiophyceae порядок Klebsormidiales			
14	<i>Klebsormidium flaccidum</i>	402	Оштукатуренный цоколь, мкр. Г, д. 7, 1 подъезд (Рис. 1Б), материал – штукатурка
15	<i>Klebsormidium flaccidum</i>	403	Низ металлической опоры козырька, мкр. Г, д. 6, 2 подъезд, материал - металл
16	<i>Klebsormidium flaccidum</i>	405	Низ металлической опоры козырька, мкр. Г, д. 5, 2 подъезд, материал - металл
17	<i>Klebsormidium mirabile</i>	398	Цоколь дома, мкр. Г, д. 26, 1 подъезд, материал - бетон
18	<i>Klebsormidium mirabile</i>	409	Клуб «Резонанс», цоколь, мкр. Д, д. 20А, материал - бетон
19	<i>Klebsormidium mirabile</i>	410	Клуб «Резонанс», цоколь, мкр. Д, д. 20А, материал - бетон

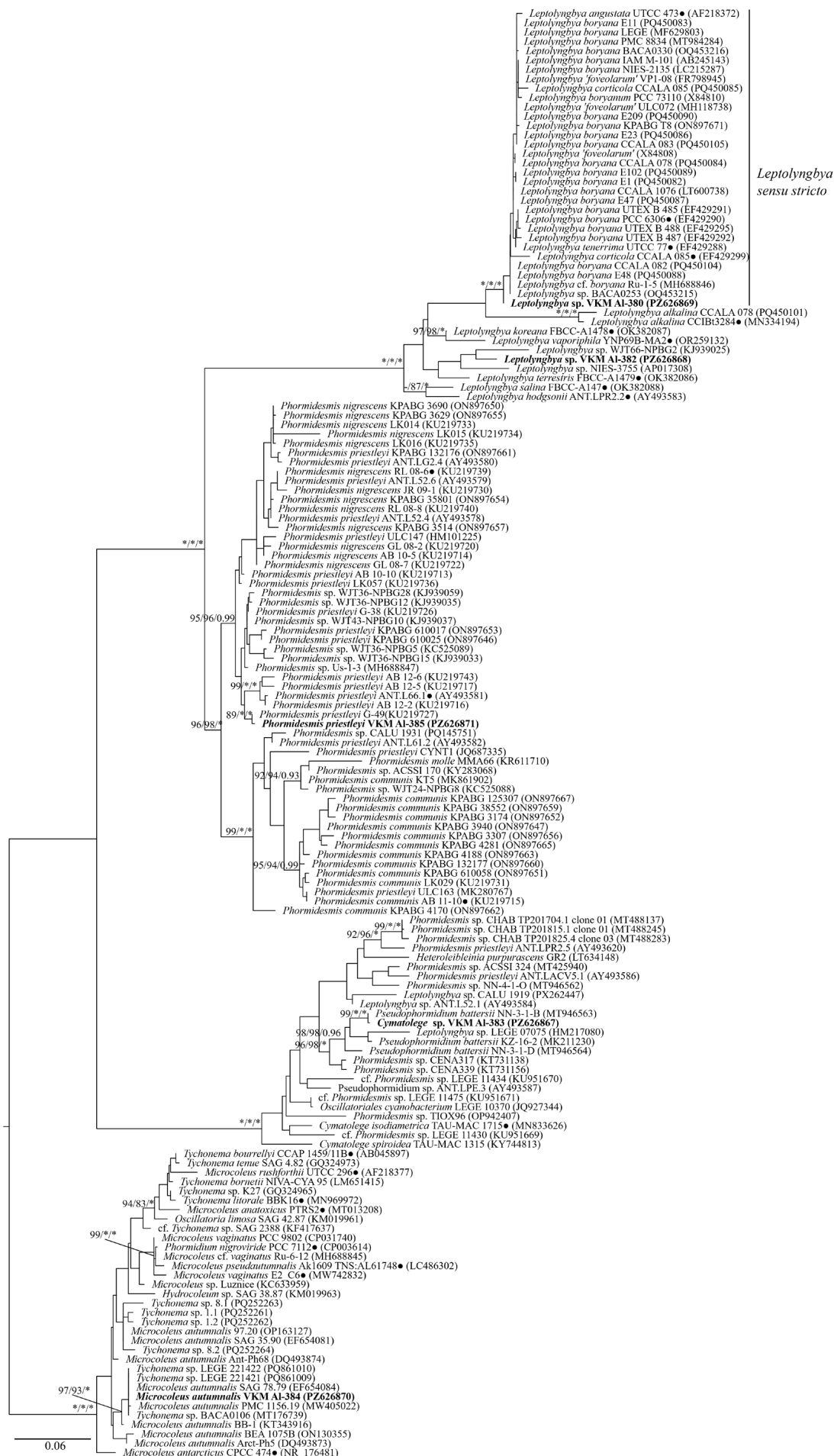


Рис.3. Филогенетическое дерево цианобактерий, построенное на основе анализа последовательностей гена 16S рРНК. Значения SH-aLRT, BP менее 90%, PP менее 0.95 не указаны. Модель нуклеотидных замен GTR + I + G. Аутентичные штаммы таксономически признанных видов обозначены черной точкой. Полу жирным шрифтом выделены штаммы, исследуемые в рамках данной работы.

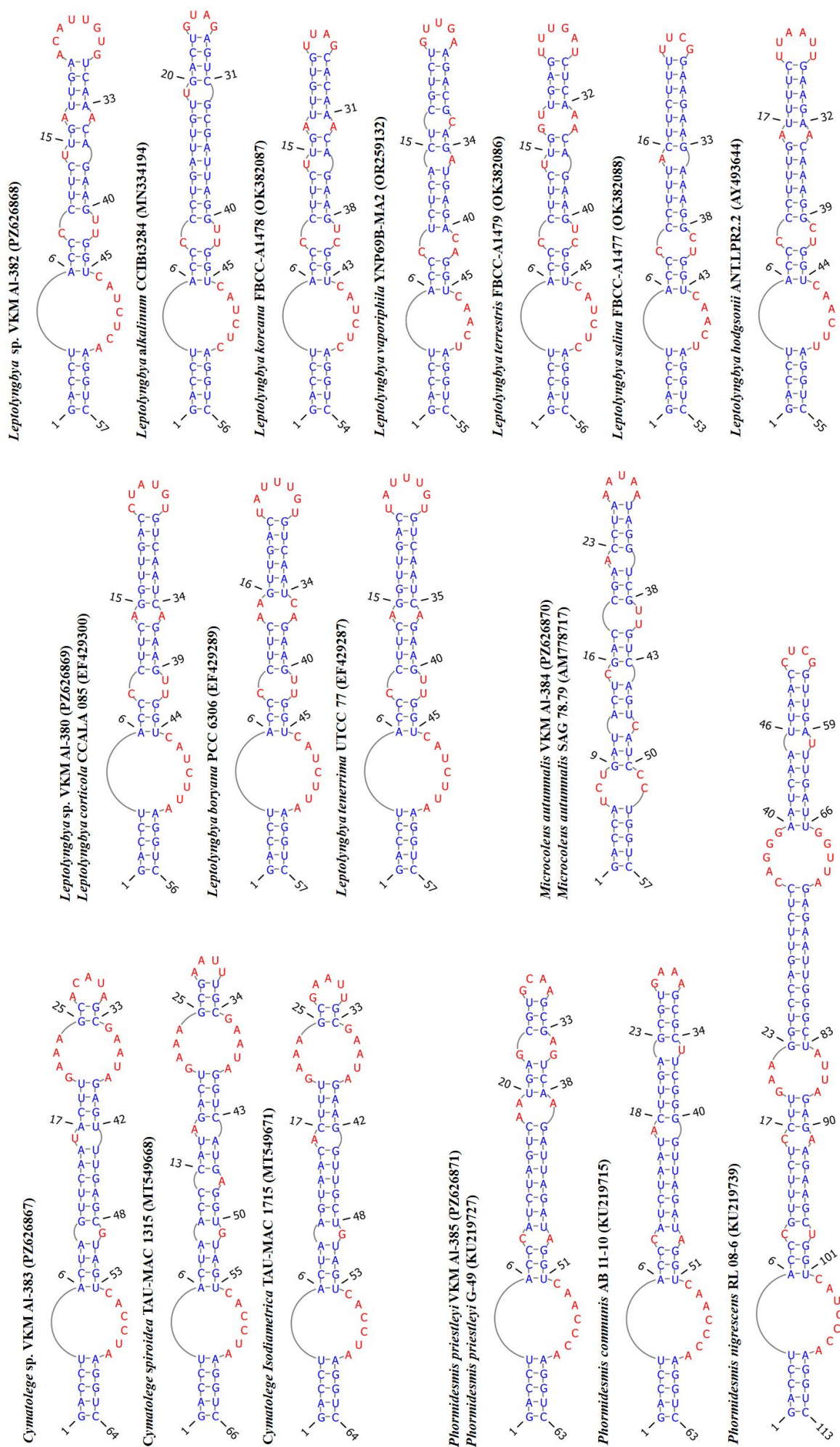


Рис.4. Вторичная структура шпильки D1-D1' спейсера 16S-23S ITS.

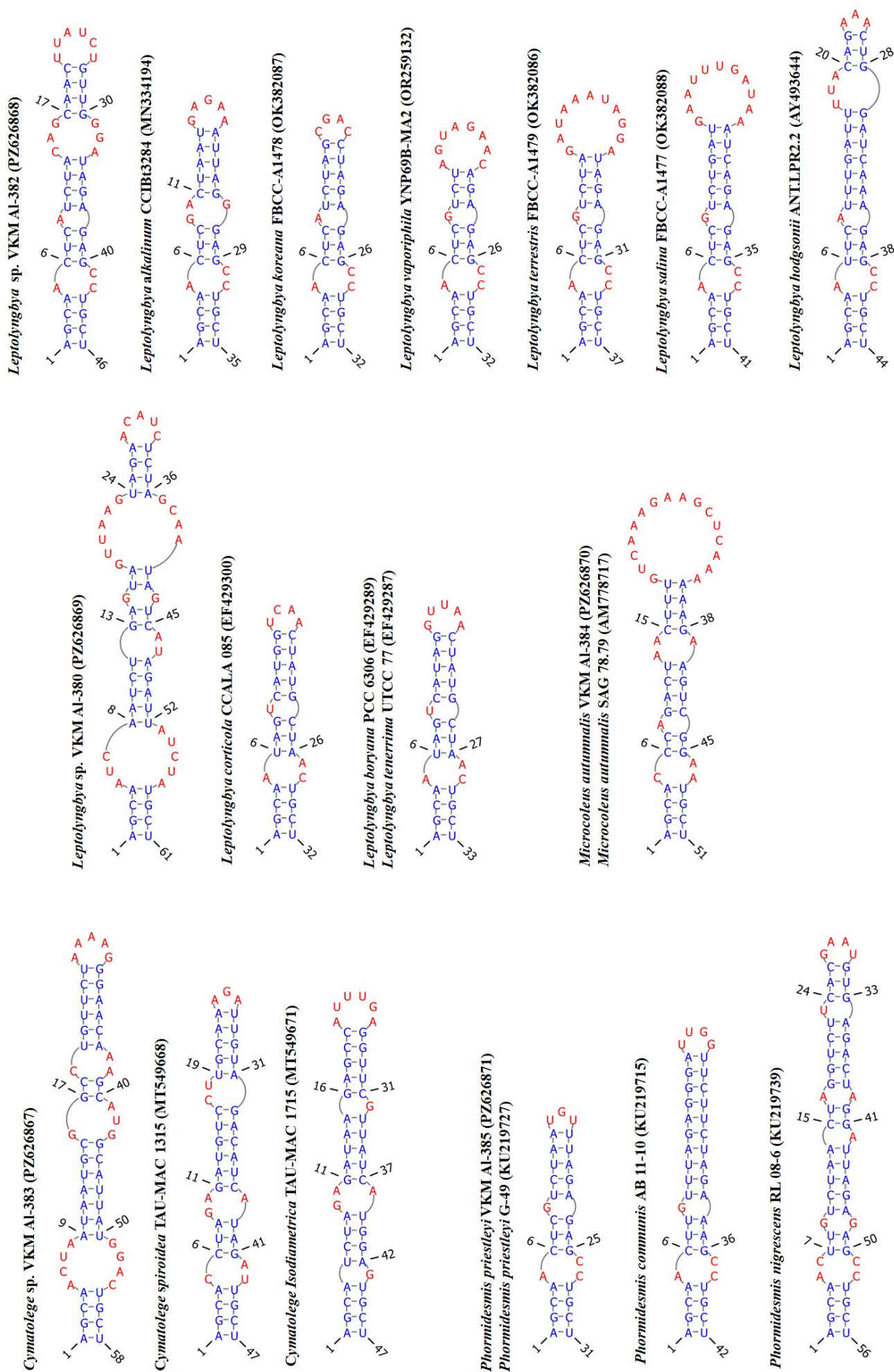


Рис.5. Вторичная структура шпильки boxB спейсера 16S-23S ITS.

писанный вид цианобактерий, и пока обозначен как *Leptolyngbya* sp.

Штамм VKM Al-385 имеет следующие морфологические признаки: нити длинные, прямые или изогнутые, 4–5 мкм шириной (Рис. 2В). Изредка наблюдается ложное ветвление. Слизистые чехлы почти бесцветные в молодых культурах и темно-серые в старых. Трихомы оливково-зеленого цвета, 2.3–2.7 мкм шириной, сужены у поперечных перегородок, могут спирально закручиваться внутри чехла. Клетки бочонковидной формы, изодиаметрические или длина клеток меньше их ширины. Апикальная клетка закруглена. Некридиальные клетки не наблюдали.

На дереве 16S рРНК штамм вошел в группу, объединяющую представителей двух видов – *Phormidesmis priestleyi* и *P. nigrescens*, и с высокой статистической поддержкой кластеризовался с *P. priestleyi* G-49 (Рис. 3). Генетическая дистанция между VKM Al-385 и G-49 составила всего 0.1%, с аутентичным *P. nigrescens* RL 08-6 – 1.6%, а с *P. priestleyi* ANT.L66.1, предложенным в качестве референсного для вида *P. priestleyi* (Davydov and Vilnet, 2022) – 1.3%. Вторичная структура шпилек D1-D1' и boxB спейсера 16S-23S ITS нашего штамма полностью идентична структуре *P. priestleyi* G-49 (Рис. 4, 5). Поскольку штамм *P. priestleyi* G-49 отнесен к этому виду на основании результатов недавних подробных исследований (Davydov and Vilnet, 2022), штамм VKM Al-385 также был идентифицирован как *Phormidesmis priestleyi*.

Штамм VKM Al-383 имел необычный фенотип. Нити длинные, прямые или изогнутые, изредка ложно разветвленные, 2.7–3.6 мкм шириной (Рис. 2Г). Оболочки тонкие, бесцветные, содержащие один (изредка более) трихом. Трихомы розоватые, слегка суженные у поперечных стенок, 2.4–3.3 мкм шириной, в некоторых местах спирально закручены, образуя узелки. Длина клеток (от 1 мкм) меньше их ширины, на концах трихомов округлые. Присутствуют некридиальные клетки.

На дереве 16S рРНК данный штамм группируется со штаммами, обозначенными как '*Pseudophormidium*' *battersii* (Рис. 3), обнаруженными в засоленных местообитаниях (Mikhailyuk et al., 2018; Sommer et al., 2020). Их таксономический статус не определен и нуждается в ревизии (Sommer et al., 2020). В свою очередь эти штаммы с максимальной статистической поддержкой формируют единую кладу с представителями недавно описанного рода *Cumatolege*. Интересно, что два описанных вида *C. spiroidea* и *C. isodiametrica* были обнаружены в морских местообитаниях в ассоциациях с губками и имели ярко-розовую окраску (Konstantinou et al., 2021). Генетические дистанции между VKM Al-383 и аутентичными штаммами *C. spiroidea* и *C. isodiametrica* равны 4.2 и 2.7% соответственно, а между описанными видами – 3.3%. Вторичная структура шпилек D1-D1' и boxB спейсера 16S-23S ITS нашего штамма и двух описанных видов отличаются между собой (Рис. 4, 5). Таким образом, штамм VKM Al-383 в кластере, соответствующем

роду, является отдельной филогенетической линией и, вероятно, представляет собой новый вид рода *Cumatolege*.

Штамм VKM Al-384 морфологически схож с представителями рода *Microcoleus* и характеризуется следующими признаками: нити шириной 6.2–9.0 мкм с бесцветными слизистыми чехлами (Рис. 2Д). Трихомы оливково-зеленого цвета, 5–6.8 мкм шириной, не имеют сужений у поперечных стенок, способны к скользящему движению. Длина клеток меньше их ширины. Терминальная клетка с калиптрой. Присутствуют некридиальные клетки.

На дереве 16S рРНК штамм с высокой поддержкой группировался с *Microcoleus autumnalis* SAG 78.79 (Рис. 3). Генетические дистанции между ними отсутствовали. Вторичная структура шпилек D1-D1' и boxB спейсера 16S-23S ITS обоих штаммов идентична (Рис. 4, 5). Эти штаммы в свою очередь являются частью крупной клады, включающей аутентичный штамм *M. vaginatus* E2_C6 и представителей других видов рода *Microcoleus*. Таким образом, на данный момент мы идентифицируем VKM Al-384 как *Microcoleus autumnalis*.

Эукариотические водоросли были представлены 14 штаммами из двух отделов – Chlorophyta (классы *Trebouxiophyceae* и *Chlorophyceae*) и Charophyta (класс *Klebsormidiophyceae*).

3.2. Зеленые водоросли

Штамм VKM Al-411 имел типичный морфотип рода *Stichococcus* (Proeschold and Darienko, 2020) (Рис. 2И). Клетки одиночные или в псевдонитях по 2–3 клетки, 5.3–9 × 2.4–3.2 мкм. Отношение длины к ширине 2.2–3. Хлоропласт один, пристенный, без пиреноида. Размножение путём деления клеток.

VKM Al-411 вошел в кладу с представителями рода *Deuterostichococcus* (Рис. 6) и кластеризовался с аутентичным штаммом *D. alpinus* FACHB-2327 (SH-aLRT – 95%, BP – 97%, PP – 0.99), при этом и генетическая дистанция составляли 1.7% (внутривидовой уровень). Для сравнения уровень генетических различий между *D. epilithicus* и *D. alpinus* – 17.8–18.1%.

Наш штамм несколько отличается от описанного недавно *D. alpinus* (Cao et al., 2025) меньшими размерами клеток и отсутствием пиреноида по данным световой микроскопии. Однако размеры клеток могут варьировать в зависимости от возраста культуры и особенностей культивирования, а для подтверждения наличия/отсутствия пиреноида необходимо провести электронную микроскопию. Таким образом, мы идентифицируем штамм VKM Al-411 как *D. alpinus*.

Близкую морфологию имел штамм VKM Al-401 (Рис. 23). Клетки одиночные, 4–8 (17) × 2.4–3.5 мкм. Отношение длины к ширине 2–2.6. Хлоропласт один, пристенный, без пиреноида. Размножение путём деления клеток.

Согласно филогенетическому анализу, штамм VKM Al-401 принадлежал к виду *Tritostichococcus corticola* (Рис. 6), поскольку кластеризовался с аутен-

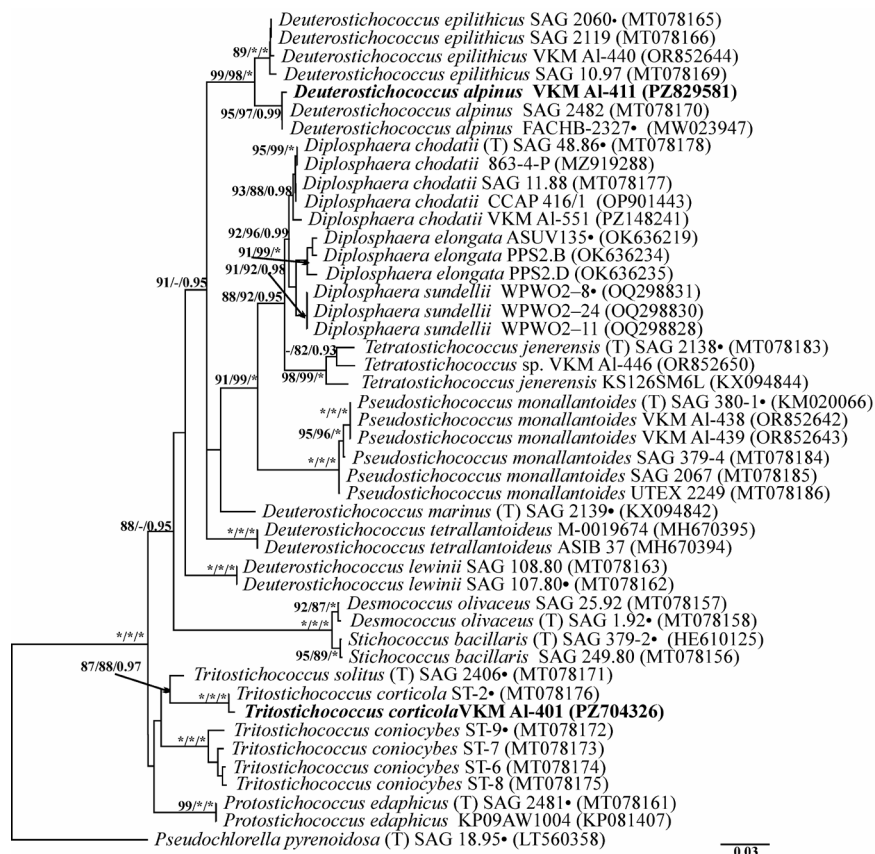


Рис.6. Укорененное филогенетическое дерево зеленых водорослей клады *Stichococcus*, построенное на основе последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 (376 н.). В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT/BP/PP. Значения SH-aLRT и BP менее 80%, PP менее 0.8 не указаны. Модель нуклеотидных замен: TPM2u + F + I + G4. Обозначения: • – аутентичные штаммы; (T) – типовый вид, * – максимальная статистическая поддержка. Полу жирным шрифтом выделены исследуемые штаммы VKM.

тичным штаммом ST-2, а уровень генетических различий составил 3.1% и соответствовал внутривидовому уровню (межвидовые дистанции варьировали в диапазоне 25.3–36.9%). Хотя при этом, как и в предыдущем случае, отличался от описанного вида (Pröschold and Darienko, 2020) несколько меньшими размерами клеток и отсутствием пиреноида по данным световой микроскопии.

Штаммы VKM Al-400, 406 и 407 были морфологически схожи с зелеными микроводорослями рода *Chloroidium* (Darienko et al., 2018) (Рис. 2К). Клетки одиночные, широкоэллипсоидной или почти шаровидной формы, $7.8 - 8.5 \times 5.0 - 6.5$ мкм. Хлоропласт один, пристенный, иногда слаболапастный. Пиреноид голый, слабо заметный. Размножение 2–4–8 автоспорами.

Согласно результатам анализа внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 штаммы VKM Al-400, VKM Al-406, VKM Al-407 относились к роду *Chloroidium* и кластеризовались с аутентичным штаммом *C. saccharophilum* SAG 2149 с высокими статистическими поддержками (SH-aLRT – 96%, BP – 95%, PP – 1.00) (Рис. 7). Уровень генетических различий между данными штаммами ВКМ составил 0–0.5%, между ними и SAG 2149 – от 0.5% до 0.9%, что соответствует внутривидовому уровню. Для сравнения генетические дистанции между штаммами *C. ellipsoideum* и *C. pseudoellipsoideum* – 1.9%, *C. pseudoellipsoideum* и *C. lichinum* – 3.4%.

Таким образом, мы идентифицируем штаммы как *C. saccharophilum*.

Штаммы VKM Al-399 и VKM Al-404 на основе морфологических признаков первоначально были идентифицированы как *Bracteacoccus* sp. (Рис. 2Е): одиночные клетки почти шаровидной или шаровидной формы с многочисленными хлоропластами в зрелых клетках и пристенным хлоропластом, состоящим из двух долей, в молодых клетках, без пиреноида. Диаметр клеток штамма VKM Al-404 достигал 11 мкм, VKM Al-399 – 13 мкм. Размножение 2–4–8 автоспорами. Зооспорогенез в культуре не наблюдался.

Согласно результатам анализа ITS2 штаммы VKM Al-399 и VKM Al-404 являлись представителями рода *Pseudomuriella* и кластеризовались с аутентичным штаммом *P. schumacherensis* UTEX 2252 с максимальной статистической поддержкой (Рис. 8). Генетические дистанции между штаммами VKM Al-399 и VKM Al-404 составили 0.4%, между ними и штаммом *P. schumacherensis* UTEX 2252 – 0–0.4% (внутривидовой уровень). Для сравнения минимальные межвидовые дистанции на примере представителей видов *P. aurantica* и *P. engadinensis* составляют 1.6%. Морфология наших штаммов сходна с описанием вида *P. schumacherensis* (Fučíková et al., 2011). Таким образом, мы идентифицируем штаммы VKM Al-399 и VKM Al-404 как *P. schumacherensis*.

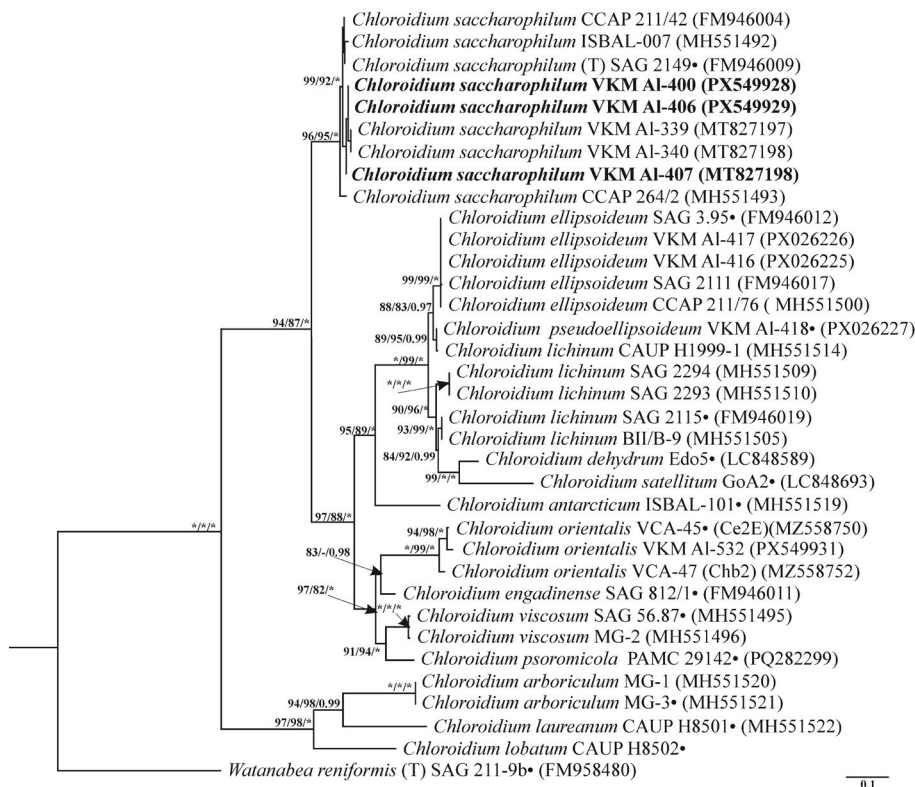


Рис.7. Укорененное филогенетическое дерево зеленых водорослей рода *Chloroidium*, построенное на основе последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 (296 н.). В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT/PP. Значения SH-aLRT и PP менее 80%, PP менее 0.8 не указаны. Модель нуклеотидных замен: TIM2 + F + I + G4. Обозначения: • – аутентичные штаммы; (T) – типовый вид, * – максимальная статистическая поддержка. Полу жирным шрифтом выделены исследуемые штаммы VKM.

Штамм **VKM Al-567** морфологически схож с представителями рода *Coelastrella* (Рис. 2Ж) и характеризовался следующими признаками: клетки одиночные, почти шаровидные или широкоовальные, иногда с полярными утолщениями, $8.4\text{--}11.5(17) \times 7.3\text{--}10$ мкм; хлоропласт пристенный, разделен на пластинчатые сегменты; единственный пиреноид окружен крахмальной оберткой. Запасные продукты – капли масла. Бесполое размножение 2–8 автоспорами. Зооспоры не наблюдались.

VKM Al-567 вошел в состав рода *Coelastrella* (Рис. 8) и относился к виду *C. affinis*, поскольку кластеризовался с аутентичным штаммом этого вида VKM Al-356 (SH-aLRT – 98%, BP – 100%, PP – 1.00) и генетическая дистанция с ним составляла всего 0.8%. При этом в рамках рода *Coelastrella* минимальный межвидовой порог между видами *C. multistriata* и *C. corcontica* по данному маркеру был равен 2%. Морфология VKM Al-567 в целом соответствует описанию вида *C. affinis* (Krivina et al., 2024), поэтому штамм отнесен нами к данному виду.

3.3. Харофитовые водоросли

Харофитовые микроводоросли были представлены наиболее часто встречающимся родом *Klebsormidium*. В культурах наблюдали длинные, прямые или слегка изогнутые нити шириной 7.2–15 мкм у штаммов VKM Al-398, 409, 410, и 6–9 мкм у VKM Al-402, 403 и 405. Клетки содержали один пристенный хлоропласт с пиреноидом, окружен-

ный крахмальной оберткой. Штамм VKM Al-410 при старении культуры характеризовался значительным утолщением клеточных стенок и наличием Н-образных фрагментов.

Для идентификации представителей рода *Klebsormidium* (порядок Klebsormidiales, класс Klebsormidiophyceae, отдел Charophyta) использовали пластидный ген *rbcL*. Такой выбор обусловлен тем, что для представителей данного рода не только ген 18S рРНК, но и внутренние транскрибируемые спейсеры ITS1 и ITS2 являются высоко консервативными, поэтому их использование не позволяет четко разграничить виды, особенно внутри клады E (Rindi et al., 2011; Mikhailyuk et al., 2015; Samolov et al., 2019). По данным *rbcL*-анализа штаммы VKM Al-398, VKM Al-409, VKM Al-410 вместе со штаммом K10 кластеризовались с аутентичным штаммом *K. mirabile* VKM Al-436 (SH-aLRT – 99%, BP – 100%, PP – 1.00) в рамках клады E в соответствии с классификацией, предложенной Rindi с соавт. (2011) (Рис. 9). Генетические различия между штаммами VKM Al-398, VKM Al-409, VKM Al-410 отсутствовали, а между этой группой штаммов и аутентичным штаммом *K. mirabile* VKM Al-436 составляли 0.9–1%. Для интерпретации порогов генетических дистанций ориентировались на минимальный межвидовой порог 2% для гена *rbcL* в кладах F и G, где ранее была проведена подробная таксономическая ревизия (Mikhailyuk et al., 2015; Samolov et al., 2019). Так, генетические расстояния между видами *K. mucosum* и *K. crenulatum* составляли 2%,



Рис.8. Укорененное филогенетическое дерево зеленых водорослей родов *Coelastrella* и *Pseudomuriella*, построенное на основе последовательностей фрагмента ITS2 (367 н.). Значения SH-aLRT и BP менее 80%, PP менее 0.8 не указаны. Модель нуклеотидных замен: TIM2 + I + G4. Обозначения: • – аутентичные штаммы; (T) – типовый вид, * – максимальная статистическая поддержка. Полуужирным шрифтом выделены исследуемые штаммы VKM.

K. karoense и *K. africanum* – 2.2%. Хотелось бы отметить, что собственно в кладе E, чье истинное видовое богатство по-прежнему нуждается в уточнении, минимальные межвидовые дистанции между аутентичными штаммами *K. nitens* SAG 13.91 и *K. dissectum* SAG 2417 составляют лишь 0.7%. На основании анализа *rbcL*, Kaplan с соавт. (2012) даже высказали предположение, что на самом деле это один вид. Однако Mikhailiuk et al. (2015), используя полифазный подход, все-таки отнесли их к разным видам. Тем не менее, учитывая морфологию, которая соответствует описанию вида (Tukhtaboeva et al., 2025), топологию дерева и пороги дистанций в кладах, где таксономический статус видов не вызы-

вает сомнений, на данном этапе исследования мы относим штаммы VKM Al-398, VKM Al-409, VKM Al-410 к виду *K. mirabile*.

Штаммы VKM Al-402, VKM Al-403, VKM Al-405 без сомнения относились к виду *K. flaccidum*. Их морфология соответствует описанию вида (Lokhorst, 1996) (Рис. 2Л). Они вошли в состав клады В/С (Рис. 9) и кластеризовались с аутентичным штаммом этого вида SAG 2307 высокими статистическими поддержками (SH-aLRT – 83%, BP – 97%, PP – 1.00). При этом генетические дистанции между данными штаммами и аутентичным штаммом SAG 2307 составляли 0–0.2%.

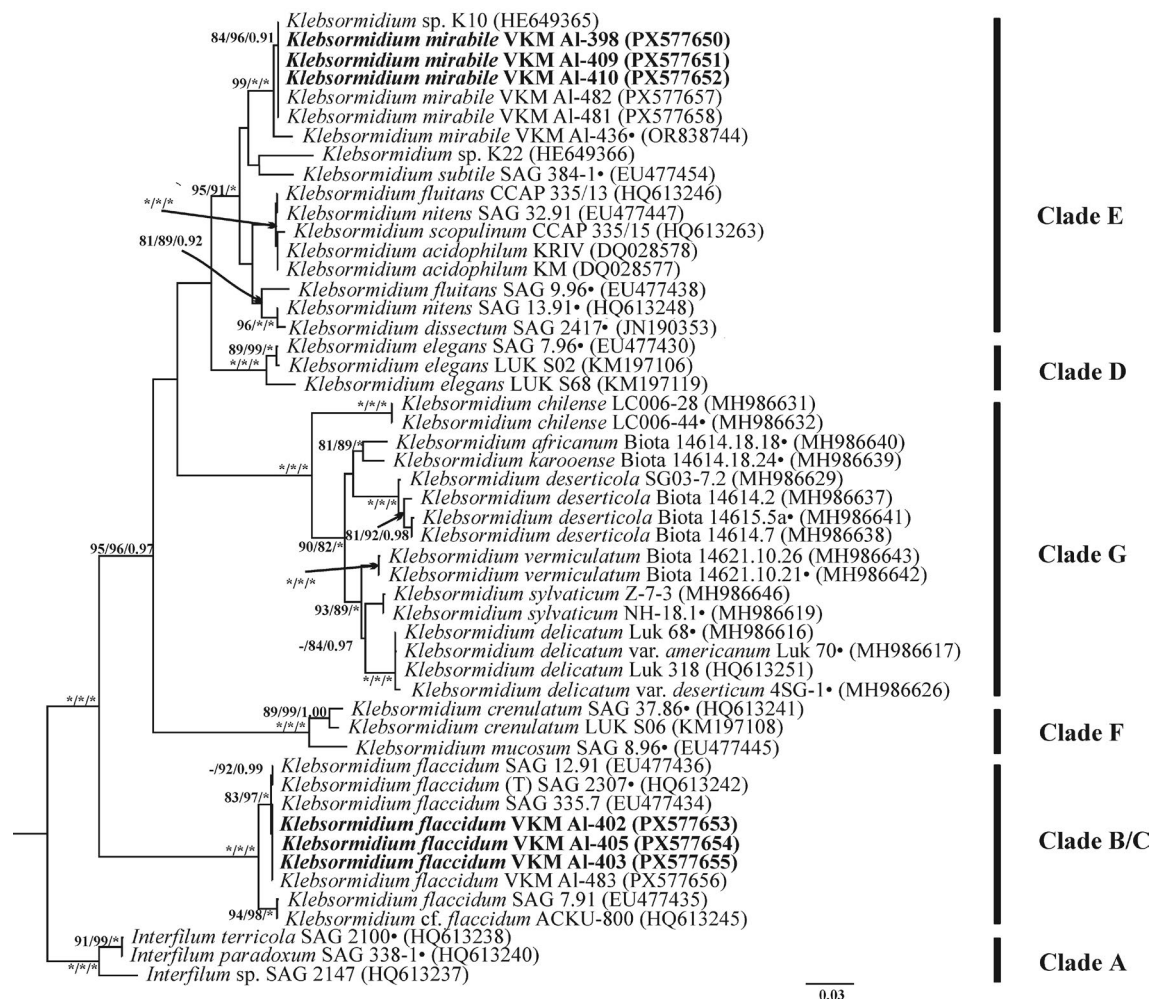


Рис.9. Укорененное филогенетическое дерево харофитовых водорослей рода *Klebsormidium*, построенное на основе последовательностей гена *rbcL* (1217 н.). В качестве статистической поддержки узлов дерева указаны значения SH-aLRT/BR/PP. Значения SH-aLRT и BR менее 80%, PP менее 0.8 не указаны. Модель нуклеотидных замен: TPM2 + F + G4. Обозначения: * – аутентичные штаммы; (T) – типовый вид, * – максимальная статистическая поддержка. Полу жирным шрифтом выделены исследуемые штаммы VKM.

Полученные данные о видовом составе фототрофных биопленок имеют важное практическое значение для разработки таргетных методов биозащиты строительных материалов. Как показывают современные исследования, биodeградация не сводится лишь к механическому разрушению, а представляет собой двухэтапный процесс: быструю кислотную деградацию минеральной матрицы с последующим хроническим повреждением, опосредованным устойчивостью биопленки (Nowicka-Krawczyk et al., 2026). Знание конкретного видового состава позволяет прогнозировать механизм коррозии и выбирать адекватные методы защиты.

С точки зрения биокоррозии, изолированные нами штаммы обладают разным потенциалом агрессивности. Наиболее агрессивным таксоном является *Chloroidium saccharophilum* (в нашем исследовании обнаружен на бетоне и металле). Согласно данным метаболомных и микроскопических исследований, этот вид обладает толстыми клеточными стенками и способностью к интенсивному синтезу низкомолекулярных органических кислот (щавелевой, лимонной, уксусной). Эти кислоты запускают механизмы хелатирования ионов металлов и кислотного растворения минеральной матрицы (Nowicka-Krawczyk

et al., 2026). Кроме того, при естественном отслоении зрелой биопленки *C. saccharophilum* способен физически отрывать минеральные зерна с поверхности субстрата, вызывая необратимые физические повреждения (Nowicka-Krawczyk et al., 2025).

В то же время, доминирующие в наших образцах харофитовые водоросли рода *Klebsormidium* (обнаружены на бетоне, штукатурке и металле) демонстрируют иную стратегию. Их химическая агрессивность оценивается как умеренная (Nowicka-Krawczyk et al., 2026), однако они обладают высокой метаболической пластичностью и стрессоустойчивостью (Holzinger and Pichrtová, 2016). *Klebsormidium* играют ключевую роль в стабилизации биопленки: они активно синтезируют внеклеточные полимерные вещества, которые удерживают влагу на поверхности материала, создавая локальный микроклимат. Это приводит к физическому выветриванию (циклы замерзания-оттаивания, набухание) и поддерживает постоянную влажность, необходимую для коррозионных процессов (Nowicka-Krawczyk et al., 2022; Nowicka-Krawczyk et al., 2025).

Среди цианобактерий высокую коррозионную активность проявляют нитчатые формы со слизи-

стыми чехлами, такие как *Microcoleus autumnalis*, *Phormidesmis priestleyi*, виды рода *Leptolyngbya*, обнаруженные на бетонных и металлических конструкциях. Наличие слизистых чехлов и способность синтезировать УФ-экранирующие пигменты (например, сцитонемин) позволяют им выживать в экстремальных условиях городской среды, продолжая проникать в субстрат и выделять метаболиты, разрушающие материал (Kala and Pandey, 2021; Keshari et al., 2021). Обильный слизистый матрикс не только физически удерживает влагу, но и подготавливает субстрат для последующей сукцессии гетеротрофных микроорганизмов (грибов и бактерий), обладающих еще более высоким деструктивным потенциалом (Nowicka-Krawczyk et al., 2022). Особый интерес представляет впервые выявленное нами присутствие *Cumatolege* sp. на антропогенных субстратах. Высокая экологическая пластичность этого рода, ранее известного преимущественно по природным биотопам, свидетельствует о его потенциальной способности к активной колонизации и возможном участии в процессах биоповреждения, что требует дальнейших исследований его деструктивного потенциала.

4. Выводы

В наземных биопленках на искусственных субстратах в условиях г. Пущино выявлено 19 штаммов фототрофных микроорганизмов, включающих 5 штаммов цианобактерий (порядки *Leptolyngbyales*, *Nodosilineales* и *Oscillatoriales*) и 14 штаммов эукариотических микроводорослей (отделы *Chlorophyta* и *Charophyta*). Доминирующее положение среди них занимают представители родов *Klebsormidium* (*Charophyta*) и *Chloroidium* (*Chlorophyta*).

Подтверждена субстратная специфичность фототрофов: наибольшее таксономическое разнообразие (почти 60% от общего количества исследованных таксонов) приурочено к такому пористому и влагоемкому материалу как бетон. Чуть больше 40% таксонов обнаружено на металлических поверхностях. Оба типа субстратов населяют цианобактерии, зеленые микроводоросли *Chloroidium saccharophilum* и *Pseudomuriella schumacherensis*, а также харофитовые водоросли рода *Klebsormidium*. С остальных субстратов (дерево, штукатурка, цементно-песчаная смесь) изолировано по одному виду микроводорослей.

На основании комплекса морфологических признаков, топологии филогенетических деревьев и генетических дистанций два штамма *Leptolyngbya* sp. VKM A1-382 и *Cumatolege* sp. VKM A1-383 определены как кандидаты в новые для науки виды, что требует их дальнейшего подробного изучения.

Впервые представитель рода *Cumatolege*, известного ранее как ассоциированный симбионт морских губок, обнаружен в субэральном наземном биотопе на антропогенном бетонном субстрате. Это существенно расширяет известный экологический диапазон и представления о пластичности данной группы цианобактерий.

Депонирование всех изученных штаммов во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов обеспечивает доступность биологического материала для последующих фундаментальных и прикладных исследований в области биокоррозии и биозащиты строительных материалов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Елене Анатольевне Портной и ведущему инженеру Раисе Леонидовне Бакулиной за помощь в проведении исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Грант № 075-15-2025-485).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Albertano P. 2012. Cyanobacterial biofilms in monuments and caves. In: Ecology of cyanobacteria II: their diversity in space and time. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 317–343. DOI: [10.1007/978-94-007-3855-3_11](https://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3_11)
- Baele G., Ji X., Hassler G.W. et al. 2025. BEAST X for Bayesian phylogenetic, phylogeographic and phylodynamic inference. *Nature Methods* 22(8): 1653–1656. DOI: [10.1038/s41592-025-02751-x](https://doi.org/10.1038/s41592-025-02751-x)
- Barberousse H. 2006. Etude de la diversité des algues et des cyanobactéries colonisant les revêtements de façade en France et recherche des facteurs favorisant leur implantation [Study of the diversity of algae and cyanobacteria colonizing facade coatings in France and search for factors favoring their establishment]. PhD Thesis, Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, France. (in French)
- Barido-Sottani J., Schwery O., Warnock R.C. et al. 2024. Practical guidelines for Bayesian phylogenetic inference using Markov chain Monte Carlo (MCMC). *Open Research Europe* 3: 204. DOI: [10.12688/openreseurope.16679.1](https://doi.org/10.12688/openreseurope.16679.1)
- Cao S., Yang C., Tian H. et al. 2025. *Deuterostichococcus alpinus* sp. nov. (Chlorophyta; Trebouxiophyceae) from Antarctica. *Czech Polar Reports* 15(1): 38–48. DOI: [10.5817/CPR2025-1-3](https://doi.org/10.5817/CPR2025-1-3)
- Collins R.A., Cruickshank R.H. 2013. The seven deadly sins of DNA barcoding. *Molecular ecology resources* 13(6): 969–975. DOI: [10.1111/1755-0998.12046](https://doi.org/10.1111/1755-0998.12046)
- Crispim C.A., Gaylarde P.M., Gaylarde C.C. 2003. Algal and cyanobacterial biofilms on calcareous historic buildings. *Current Microbiology* 46(2): 79–82. DOI: [10.1007/s00284-002-3815-z](https://doi.org/10.1007/s00284-002-3815-z)
- Darienko T., Lukešová A., Proeschold T. 2018. The polyphasic approach revealed new species of *Chloroidium* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *Phytotaxa* 372(1): 51–66. DOI: [10.11646/phytotaxa.372.1.4](https://doi.org/10.11646/phytotaxa.372.1.4)
- Davydov D., Vilnet A. 2022. Review of the cyanobacterial genus *Phormidesmis* (Leptolyngbyaceae) with the description of *Apatinema* gen. nov. *Diversity* 14(9): 731. DOI: [10.3390/d14090731](https://doi.org/10.3390/d14090731)
- D’Orazio M., Quagliarini E. 2023. Influence of the wind driving rain on algae growth on building facades. A prediction based on neural networks. DOI: [10.2139/ssrn.4517307](https://doi.org/10.2139/ssrn.4517307)

- Fučíková K., Rada J.C., Lewis L.A. 2011. The tangled taxonomic history of *Dictyococcus*, *Bracteacoccus* and *Pseudomuriella* (Chlorophyceae, Chlorophyta) and their distinction based on a phylogenetic perspective. *Phycologia* 50(4): 422–429. DOI: [10.2216/10-69.1](https://doi.org/10.2216/10-69.1)
- Galindo-Alcázar O., Medina-Jaritz N.B., Garduño-Solórzano G. et al. 2018. Cyanobacteria and microalgae from surface biofilm from Malinalco, Mexico, an archaeological site. *Polibotánica* 45: 131–146. DOI: [10.18387/polibotanica.45.10](https://doi.org/10.18387/polibotanica.45.10)
- Gaylarde C.C. 2020. Influence of environment on microbial colonization of historic stone buildings with emphasis on cyanobacteria. *Heritage* 3(4): 1469–1482. DOI: [10.3390/heritage3040081](https://doi.org/10.3390/heritage3040081)
- Guiry M.D., Guiry G.M. 2025. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. URL: <http://www.algaebase.org>
- Hoang D.T., Chernomor O., Von Haeseler A. et al. 2018. UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular Biology and Evolution* 35(2): 518–522. DOI: [10.1093/molbev/msx281](https://doi.org/10.1093/molbev/msx281)
- Holzinger A., Pichrtová M. 2016. Abiotic stress tolerance of charophyte green algae: new challenges for omics techniques. *Frontiers in Plant Science* 7: 678. DOI: [10.3389/fpls.2016.00678](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00678)
- Huaman Y.N.C., Villanueva R.S., Huanca O.L.C. 2025. Biopelículas de microalgas y cianobacterias, pioneras en la colonización y deterioro del monumento de Saqsaywaman [Microalgae and cyanobacteria biofilms, pioneers in the colonization and deterioration of the Saqsaywaman monument]. *Ambiente, Comportamiento y Sociedad* 8(1): 1–20. DOI: [10.51343/racs.v8i1.1503](https://doi.org/10.51343/racs.v8i1.1503) (in Spanish)
- Johansen J.R., Kovacik L., Casamatta D.A. et al. 2011. Utility of 16S-23S ITS sequence and secondary structure for recognition of intrageneric and intergeneric limits within cyanobacterial taxa: *Leptolyngbya corticola* sp. nov. (Pseudanabaenaceae, Cyanobacteria). *Nova Hedwigia* 92(3): 283. DOI: [10.1127/0029-5035/2011/0092-0283](https://doi.org/10.1127/0029-5035/2011/0092-0283)
- Kala R., Pandey V.D. 2021. Biocolonization and biodeterioration of monuments by cyanobacteria. *Plant Archives* 21(1): 1531–1536.
- Kaplan F., Lewis L.A., Wastian J. et al. 2012. Plasmolysis effects and osmotic potential of two phylogenetically distinct alpine strains of *Klebsormidium* (Streptophyta). *Protoplasma* 249(3): 789–804. DOI: [10.1007/s00709-011-0324-z](https://doi.org/10.1007/s00709-011-0324-z)
- Katoh K., Rozewicki J., Yamada K.D. 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics* 20(4): 1160–1166. DOI: [10.1093/bib/bbx108](https://doi.org/10.1093/bib/bbx108)
- Keshari N., Adhikary S.P. 2014. Diversity of cyanobacteria on stone monuments and building facades of India and their phylogenetic analysis. *International Biodeterioration & Biodegradation* 90: 45–51. DOI: [10.1016/j.ibiod.2014.01.014](https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.01.014)
- Keshari N., Das S.K., Adhikary S.P. 2021. Colonization and survival of a stress tolerant cyanobacterium on a heritage monument of Santiniketan, India. *International Biodeterioration & Biodegradation* 164: 105294. DOI: [10.1016/j.ibiod.2021.105294](https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2021.105294)
- Konstantinou D., Voultsiadou E., Panteris E. et al. 2021. Revealing new sponge-associated cyanobacterial diversity: Novel genera and species. *Molecular phylogenetics and evolution* 155: 106991. DOI: [10.1016/j.ympev.2020.106991](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106991)
- Krivina E., Sinetova M., Zadneprovskaya E. et al. 2024. The genus *Coelastrella* (Chlorophyceae, Chlorophyta): molecular species delimitation, biotechnological potential, and description of a new species *Coelastrella affinis* sp. nov., based on an integrative taxonomic approach. *Antonie van Leeuwenhoek* 117(113): 1–23. DOI: [10.1007/s10482-024-02008-1](https://doi.org/10.1007/s10482-024-02008-1)
- Lokhorst G.M. 1996. Comparative taxonomic studies on the genus *Klebsormidium* (Charophyceae) in Europe. *Cryptogamie Studies* 5: 1–132.
- Macedo M.F., Vilarigues M.G., Coutinho M.L. 2021. Biodeterioration of glass-based historical building materials: an overview of the heritage literature from the 21st century. *Applied Sciences* 11(20): 9552. DOI: [10.3390/app11209552](https://doi.org/10.3390/app11209552)
- Mikhailyuk T.I., Vinogradova O.M., Glaser K. et al. 2018. Diversity of terrestrial algae of Cape Kazantip (the Sea of Azov, Ukraine) and some remarks on their phylogeny and ecology. *International Journal on Algae* 20(4): 313–338. DOI: [10.1615/InterJAlgae.v20.i4.10](https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v20.i4.10)
- Mikhailyuk T., Glaser K., Holzinger A. et al. 2015. Biodiversity of *Klebsormidium* (Streptophyta) from alpine biological soil crusts (Alps, Tyrol, Austria, and Italy) *Journal of Phycology* 51(4): 750–767. DOI: [10.1111/jpy.12316](https://doi.org/10.1111/jpy.12316)
- Minh B.Q., Schmidt H.A., Chernomor O. et al. 2020. IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Molecular Biology and Evolution* 37(5): 1530–1534. DOI: [10.1093/molbev/msaa015](https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015)
- Nowicka-Krawczyk P., Komar M., Gutarowska B. 2022. Towards understanding the link between the deterioration of building materials and the nature of aerophytic green algae. *Science of the Total Environment* 802: 149856. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2021.149856](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149856)
- Nowicka-Krawczyk P., Komar M., Gutarowska B. et al. 2025. Growth strategy of aerial green algae on building materials in the temperate climate zone and its relevance to substrate biodeterioration. *Scientific Reports* 16(1): 2167. DOI: [10.1038/s41598-025-31926-x](https://doi.org/10.1038/s41598-025-31926-x)
- Nowicka-Krawczyk P., Komar M., Gutarowska B. et al. 2026. Assessing the potential for biogeochemical deterioration of building materials by green algae in temperate climate via an integrated metabolomic approach. *Scientific Reports*. DOI: [10.1038/s41598-026-58452-8](https://doi.org/10.1038/s41598-026-58452-8)
- Piontek M., Lechów H. 2014. Aerophytic cyanobacteria as a factor in the biodegradation of technical materials on external building walls. *Civil and Environmental Engineering Reports* 13: 109–119. DOI: [10.2478/ceer-2014-0019](https://doi.org/10.2478/ceer-2014-0019)
- Proeschold T., Darienko T. 2020. The green puzzle *Stichococcus* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta): New generic and species concept among this widely distributed genus. *Phytotaxa* 441(2): 113–142. DOI: [10.11646/phytotaxa.441.2.2](https://doi.org/10.11646/phytotaxa.441.2.2)
- Rambaut A., Drummond A.J., Xie D. et al. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology* 67(5): 901–904. DOI: [10.1093/sysbio/syy032](https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032)
- Reboah P., Bolou-Bi C.B., Nowak S. et al. 2023. Influence of climatic factors on cyanobacteria and green algae development on building surface. *PLOS ONE* 18(3): e0282140. DOI: [10.1371/journal.pone.0282140](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0282140)
- Rindi F., Mikhailyuk T.I., Sluiman H.J. et al. 2011. Phylogenetic relationships in *Interfilum* and *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) *Molecular Phylogenetics and Evolution* 58(2): 218–231. DOI: [10.1016/j.ympev.2010.11.030](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.11.030)
- Samad L.K., Adhikary S.P. 2008. Diversity of micro-algae and cyanobacteria on building facades and monuments in India. *Algae* 23(2): 91–99. DOI: [10.4490/algae.2008.23.2.091](https://doi.org/10.4490/algae.2008.23.2.091)
- Samolov E., Mikhailyuk T., Lukešová A. et al. 2019. Usual alga from unusual habitats: Biodiversity of *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) from the phylogenetic superclade G isolated from biological soil crusts. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 133: 236–255. DOI: [10.1016/j.ympev.2018.12.018](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.12.018)
- Sayers E.W., Beck J., Bolton E.E. et al. 2021. Database resources of the National Center for Biotechnology

Information. *Nucleic Acids Research* 49(D1): D10-D17.

Scheerer S., Ortega-Morales O., Gaylarde C. 2009. Microbial deterioration of stone monuments – an updated overview. *Advances in Applied Microbiology* 66: 97–139. DOI: [10.1016/S0065-2164\(08\)00805-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)00805-8)

Shimodaira H. 2002. An approximately unbiased test of phylogenetic tree selection. *Systematic Biology* 51(3): 492–508. DOI: [10.1080/10635150290069913](https://doi.org/10.1080/10635150290069913)

Shirakawa M.A., Loh K., John V.M. et al. 2012. Resistance of cyanobacterial fouling on architectural paint films to cleaning by water jet. *Current Microbiology* 64(4): 312–316. DOI: [10.1007/s00284-011-0072-5](https://doi.org/10.1007/s00284-011-0072-5)

Sommer V., Mikhailyuk T., Glaser K. et al. 2020. Uncovering unique green algae and cyanobacteria isolated from biocrusts in highly saline potash tailing pile habitats, using an integrative approach. *Microorganisms* 8(11): 1667. DOI: [10.3390/microorganisms8111667](https://doi.org/10.3390/microorganisms8111667)

Strunecký O., Elster J., Komárek J. 2010. Phylogenetic relationships between geographically separate *Phormidium* cyanobacteria: is there a link between north and south polar regions? *Polar Biology* 33(10): 1419–1428. DOI: [10.1007/s00300-010-0834-8](https://doi.org/10.1007/s00300-010-0834-8)

Tamura K., Stecher G., Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38(7): 3022–3027. DOI: [10.1093/molbev/msab120](https://doi.org/10.1093/molbev/msab120)

Taton A., Grubisic S., Brambilla E. et al. 2003. Cyanobacterial diversity in natural and artificial microbial mats of Lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica): a morphological and molecular approach. *Applied and Environmental Microbiology* 69(9): 5157–5169.

Tukhtaboeva Y., Krivina E., Redkina V. et al. 2025. Species delimitation in the genus *Klebsormidium* (Klebsormidiophyceae, Charophyta), including description of *Klebsormidium mirabile* sp. nov. with high content of polyunsaturated fatty acids. *PhytoKeys* 266: 53. DOI: [10.3897/phytokeys.266.158514](https://doi.org/10.3897/phytokeys.266.158514)

White T.J., Bruns T., Lee S. et al. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J. (Eds.), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. San Diego: Academic Press, pp. 315–322. DOI: [10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1)