

An Overview of the Structure, Metabolism, Applications, and Implications of Aerobic Microbial Biofilms

Robab Bayrami Karkaragh^a - Mohammad Faezi Gasemi^b Aram Ebadati^c - Fatemeh Babaei^d - Zeynab Moradi^b

a. Department of Microbiology, Ardabil branch., Islamic Azad University, Ardabil, Iran

b Department of Microbiology, La.C., Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

c. Sirjan University of Medical Sciences(SUMS)

d. Department of Cellular and molecular biology, La.C., Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

Abstract

Aerobic microbial biofilms are complex communities of microorganisms embedded within a self-produced extracellular polymeric substance (EPS) matrix and adhered to biotic or abiotic surfaces. In aerobic environments, these structures form a unique layered arrangement due to oxygen and nutrient gradients, leading to metabolic division of labor, cross-feeding, and a significant increase in resistance to antimicrobial agents. Studying these communities is essential for understanding their biological applications and addressing associated clinical and industrial challenges. This review was conducted by integrating findings from multiple studies. The methodologies employed included: Advanced Microscopy Techniques such as Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM) for 3D imaging and Scanning Electron Microscopy (SEM) for surface morphology examination. Molecular Analyses including metagenomics and metatranscriptomics to identify microbial composition and metabolic pathways. Mathematical Modeling and Computer Simulation, notably using an Active Fluid Model to simulate vertical growth dynamics and predict biofilm height using software like MATLAB and Python. Laboratory Systems and Bioreactors to simulate environmental conditions and assess biofilm performance in pollutant removal. The findings revealed that aerobic biofilms possess a multilayered structure with distinct metabolic zones. The surface layer, with high oxygen access, activates oxidative pathways like glycolysis and the TCA cycle. The middle and deep layers, with progressively decreasing oxygen, rely on the glyoxylate pathway and fermentative metabolism, respectively. This metabolic stratification enhances structural stability and increases drug resistance by up to 1000-fold compared to planktonic cells. From an application perspective, these biofilms were highly effective in bioremediation of pollutants, wastewater treatment, heavy metal recovery, and energy generation in microbial fuel cells. The active fluid model accurately predicted vertical biofilm growth and the impact of factors such as cell death rate. Due to their layered structure and flexible metabolism, aerobic biofilms present both valuable opportunities for biotechnological and environmental technologies and major challenges in healthcare and industry. Their beneficial applications in water and soil treatment are undeniable; however, their high resistance to antibiotics poses a serious public health threat. Future strategies should focus on developing green technologies for the targeted exploitation of these structures, alongside their

effective control by interfering with specific metabolic pathways (e.g., c-di-GMP signaling) and EPS matrix enzymes.

Keywords: Biofilm, Metabolism, Metagenomix, Microscopy, Microorganism

مروری بر ساختار، متابولیسم، کاربردها و پیامدهای بیوفیلیم‌های میکروبی هوازی

رباب بایرامی کرکرق^۱ - محمد فائزی قاسمی^۲ آرام عبادتی^۳ - فاطمه بابایی^۴ - زینب مرادی^۲

^۱ گروه میکروبیولوژی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران

^۲ گروه میکروبیولوژی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.

^۳ دانشگاه علوم پزشکی سیرجان.

^۴ گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.

چکیده

بیوفیلیم‌های میکروبی هوازی، جوامع پیچیده‌ای از میکروارگانیسم‌ها هستند که در یک ماتریکس ماده پلیمری خارج سلولی (EPS) خودساخته قرار گرفته‌اند و به سطوح زیستی یا غیرزیستی چسبیده‌اند. در محیط‌های هوازی، این ساختارها به دلیل گرادیان‌های اکسیژن و مواد مغذی، یک آرایش لایه‌ای منحصر به فرد تشکیل می‌دهند که منجر به تقسیم کار متابولیکی، تغذیه متقاطع و افزایش قابل توجه مقاومت در برابر عوامل ضد میکروبی می‌شود. مطالعه این جوامع برای درک کاربردهای بیولوژیکی آنها و پرداختن به چالش‌های بالینی و صنعتی مرتبط ضروری است.

این بررسی با ادغام یافته‌های مطالعات متعدد انجام شد. روش‌های به کار رفته شامل موارد زیر بود: تکنیک‌های میکروسکوپی پیشرفته مانند میکروسکوپ اسکن لیزری کانفو کال (CLSM) برای تصویربرداری سه‌بعدی و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) برای بررسی مورفولوژی سطح.

تجزیه و تحلیل‌های مولکولی شامل متاژنومیکس و متاترنسکرپتومیکس برای شناسایی ترکیب میکروبی و مسیرهای متابولیکی. مدل‌سازی ریاضی و شبیه‌سازی کامپیوتری، به ویژه با استفاده از یک مدل سیال فعال برای شبیه‌سازی دینامیک رشد عمودی و پیش‌بینی ارتفاع بیوفیلیم با استفاده از نرم‌افزارهایی مانند MATLAB و Python. سیستم‌های آزمایشگاهی و بیوراکتورها برای شبیه‌سازی شرایط محیطی و ارزیابی عملکرد بیوفیلیم در حذف آلاینده‌ها.

یافته‌ها نشان داد که بیوفیلیم‌های هوازی دارای ساختار چندلایه با مناطق متابولیکی متمایز هستند. لایه سطحی، با دسترسی اکسیژن بالا، مسیرهای اکسیداتیو مانند گلیکولیز و چرخه TCA را فعال می‌کند. لایه‌های میانی و عمیق، با کاهش تدریجی اکسیژن، به ترتیب به مسیر گلیوکسیلات و متابولیسم تخمیری متکی هستند. این لایه‌بندی متابولیکی، پایداری ساختاری را افزایش داده و مقاومت دارویی را تا ۱۰۰۰ برابر در مقایسه با سلول‌های پلانکتونی افزایش می‌دهد. از دیدگاه کاربردی، این بیوفیلیم‌ها در زیست‌پالایی آلاینده‌ها، تصفیه فاضلاب، بازیابی فلزات سنگین و تولید انرژی در سلول‌های سوختی میکروبی بسیار مؤثر بودند. مدل سیال فعال، رشد عمودی بیوفیلیم و تأثیر عواملی مانند میزان مرگ سلولی را به طور دقیق پیش‌بینی کرد.

بیوفیلیم‌های هوازی به دلیل ساختار لایه‌ای و متابولیسم انعطاف‌پذیرشان، هم فرصت‌های ارزشمندی برای فناوری‌های بیوتکنولوژیکی و محیطی و هم چالش‌های عمده‌ای در مراقبت‌های بهداشتی و صنعت ارائه می‌دهند. کاربردهای مفید آنها در تصفیه آب و خاک غیرقابل انکار است. با این حال، مقاومت بالای آنها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها تهدیدی جدی برای سلامت عمومی محسوب می‌شود. استراتژی‌های آینده باید بر توسعه فناوری‌های سبز برای بهره‌برداری هدفمند از این ساختارها، در کنار کنترل مؤثر آنها با تداخل در مسیرهای متابولیکی خاص (به عنوان مثال، سیگنالینگ c-di-GMP و آنزیم‌های ماتریکس EPS متمرکز شوند).

کلید واژه‌ها: بیوفیلیم، متابولیسم، متاژنومیکس، میکروسکوپی، میکروارگانیسم

References

Kreft, J.-U., Booth, G., & Wimpenny, J. W. T. (1998). BacSim, a simulator for individual-based modelling of bacterial colony growth. *Microbiology*, 144(12), 3275–3287.

<https://doi.org/10.1099/0.221287-144-12-3275>

Xiong, L., Cao, Y., Cooper, R., Rappel, W.-J., Hasty, J., & Tsimring, L. (2020). Flower-like patterns in multi-species bacterial colonies. *eLife*, 9, e48880.

<https://doi.org/10.7554/eLife.48880>

Ali A, Zahra A, Kamthan M, et al. “Microbial Biofilms: Applications, Clinical Consequences, and Alternative Therapies.” *Microorganisms*. 2023; 11(8):1934.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms11081934>

Yijia Xie et al. “Nanomaterial-enabled anti-biofilm strategies: new opportunities for treatment of bacterial infections.” *Nanoscale*. 2020; 12:560–5628.

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2020/nr/d4nr04444e>

Kostakioti, M., Hadjifrangiskou, M., & Hultgren, S. J. (2013). Bacterial biofilms: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(4), a010306. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a010306>

Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Review of Microbiology*, 56, 187–209.

<https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160700>