

# L'utilizzo di microalge ed endofiti come bio-stimolanti: proprietà anti-ossidanti e anti-infiammatorie dei germogli di *Cannabis sativa* L. ottenuti in condizioni standard e di arricchimento

Andrea Cavallero<sup>1</sup>, Elisa Chelucci<sup>1</sup>, Carolina Chiellini<sup>1</sup> e Morena Gabriele<sup>1</sup>

Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria, sede secondaria di Pisa

## Introduzione

I germogli, derivati dalla germinazione dei semi di piante erbacee commestibili, sono ricchi di composti bioattivi e micronutrienti che favoriscono la salute. Negli ultimi anni, il consumo quotidiano di semi germogliati nelle diete è aumentato, con un interesse crescente nel esplorare i loro potenziali effetti benefici sulla salute umana.

La canapa (*Cannabis sativa* L.) è una pianta erbacea annuale originaria dell'Asia centrale. Nel corso della storia, è stata principalmente utilizzata per trattamenti medici, produzione alimentare e di fibre. La canapa industriale (*C. sativa* subsp. *sativa*) contiene molecole bioattive, come composti fenolici e terpeni, mentre possiede un basso livello del composto psicoattivo D9-tetraidrocannabinolo (THC) rispetto a *C. sativa* subsp. *indica* (meno del 20% di THC).

Attualmente, tecniche chiamate "elicitation" sono utilizzate per incrementare i composti fitochimici nei germogli, migliorandone così il loro profilo biologico. Gli endofiti batterici e le microalge sono risultate promettenti per migliorare la sostenibilità e la redditività agricola, potenziando la crescita delle piante e l'accumulo di molecole bioattive.

Questo studio ha valutato il tasso di germinazione e le proprietà nutraceutiche dei semi di *C. sativa* varietà "Futura 75" in condizioni standard e di arricchimento utilizzando la microalga *Clorella* sp. (C2) e il batterio *Sphingomonas* sp. (CAN\_S11), isolati dai semi di canapa, come biostimolanti. Infine, è stata valutata la proprietà anti-infiammatoria dei germogli di *C. sativa* su una linea cellulare polmonare umana infiammata dal TNF $\alpha$  (A549) e confrontata con quella dei semi.

## Metodi

- ✓ I semi di *C. sativa* sono stati fatti germogliare in diverse condizioni di arricchimento.
- ✓ I composti bioattivi (polifenoli e flavonoidi) sono stati analizzati negli estratti dei germogli di *C. sativa*.
- ✓ Mediante saggi in vitro (DPPH e ORAC), è stata rilevata l'attività antiossidante e la capacità di scavenging dei radicali negli estratti di *C. sativa*.
- ✓ Il possibile effetto citotossico degli estratti è stato valutato nella linea cellulare delle A549 utilizzando il test MTT.
- ✓ I livelli dei marker dell'infiammazione IL-8 e COX2 sono stati analizzati, mediante Real-Time PCR, in cellule A549 esposte al TNF- $\alpha$  per 4h, dopo essere state pre-trattate con gli estratti.

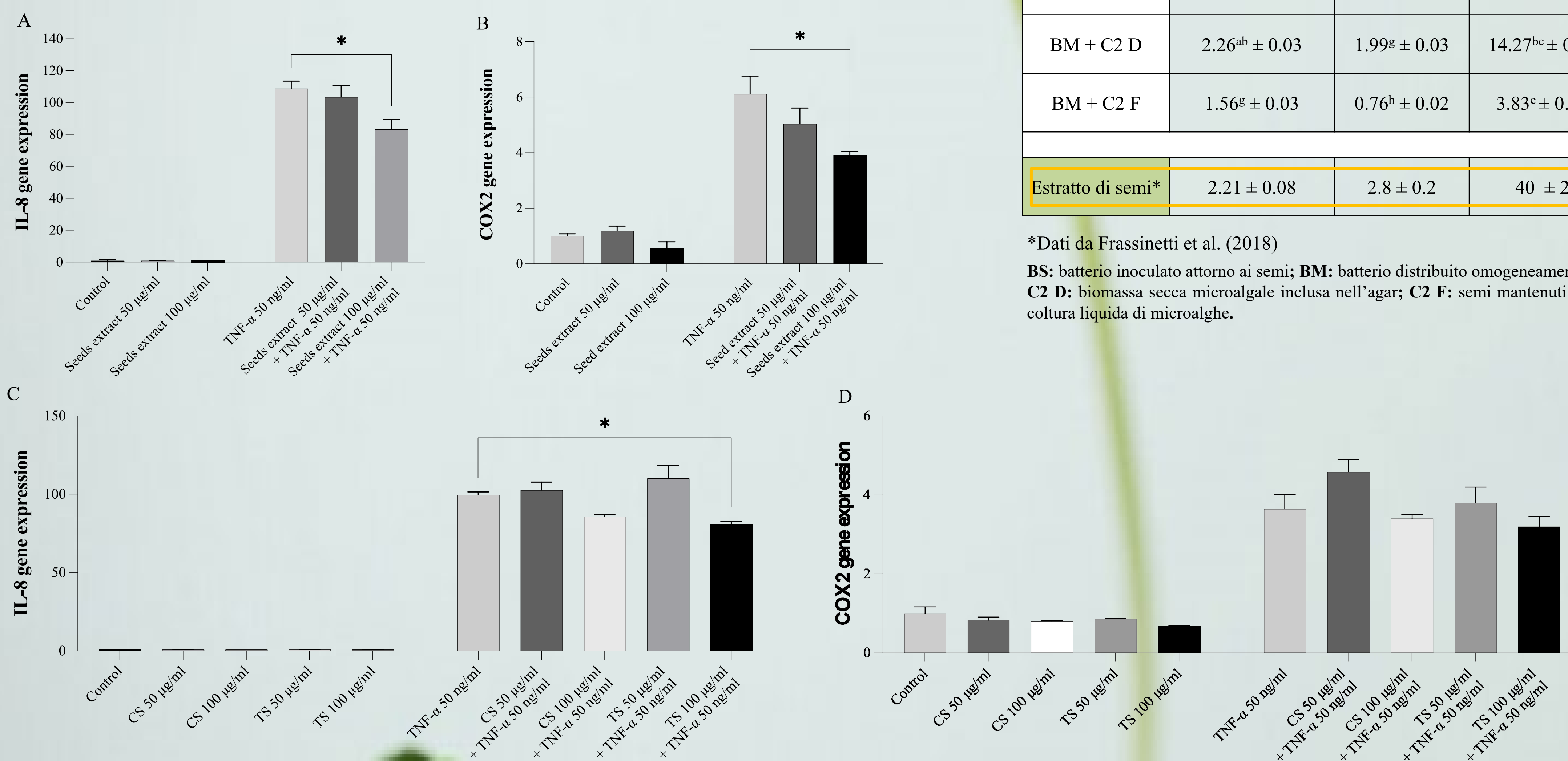


**Tabella 1.** Polifenoli totali, flavonoidi, attività antiossidante e capacità di scavenging dei radicali misurati negli estratti di semi e germogli di *C. sativa*. I valori sono espressi come media  $\pm$  DS. ANOVA a una via e test post-hoc di Tukey;  $p < 0,01$ . Lettere diverse indicano differenze significative tra i trattamenti.

Condizioni di germinazione	Polifenoli totali (mg GAE/g FW)	Flavonoidi (mg QE/g FW)	DPPH (% ARA)	ORAC ( $\mu$ mol TE/100 g FW)
Standard	2.20 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	1.63 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	22.60 <sup>a</sup> $\pm$ 0.68	41.29 <sup>a</sup> $\pm$ 1.94
BS	2.25 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.01	1.45 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03	23.96 <sup>a</sup> $\pm$ 1.18	38.80 <sup>ab</sup> $\pm$ 1.82
BM	2.06 <sup>c</sup>	1.21 <sup>c</sup> $\pm$ 0.03	17.07 <sup>b</sup> $\pm$ 0.90	30.53 <sup>b</sup> $\pm$ 0.18
C2 D	2.40 <sup>d</sup>	2.20 <sup>d</sup> $\pm$ 0.02	11.68 <sup>c</sup> $\pm$ 0.21	55.19 <sup>c</sup> $\pm$ 3.44
C2 F	2.29 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.01	1.60 <sup>a</sup> $\pm$ 0.03	nd	47.60 <sup>ac</sup> $\pm$ 2.24
BS + C2 D	2.95 <sup>e</sup>	2.68 <sup>e</sup> $\pm$ 0.01	27.01 <sup>d</sup> $\pm$ 0.35	81.83 <sup>d</sup> $\pm$ 14.55
BS + C2 F	1.79 <sup>f</sup> $\pm$ 0.01	1.78 <sup>f</sup> $\pm$ 0.06	1.44 <sup>e</sup> $\pm$ 0.84	30.41 <sup>b</sup> $\pm$ 1.43
BM + C2 D	2.26 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.03	1.99 <sup>e</sup> $\pm$ 0.03	14.27 <sup>bc</sup> $\pm$ 0.77	37.47 <sup>ab</sup> $\pm$ 2.02
BM + C2 F	1.56 <sup>g</sup> $\pm$ 0.03	0.76 <sup>h</sup> $\pm$ 0.02	3.83 <sup>e</sup> $\pm$ 0.12	29.07 <sup>b</sup> $\pm$ 0.05
Estratto di semi*	2.21 $\pm$ 0.08	2.8 $\pm$ 0.2	40 $\pm$ 2	127 $\pm$ 5

\*Dati da Frassinetti et al. (2018)

**BS:** batterio inoculato attorno ai semi; **BM:** batterio distribuito omogeneamente sulla superficie del mezzo; **C2 D:** biomassa secca microalgale inclusa nell'agar; **C2 F:** semi mantenuti per una notte in co-soluzione con cultura liquida di microalga.



**Figura 1.** Analisi dell'espressione dei geni IL-8 (A e C) e COX2 (B e D) in cellule A549 pretrattate per 1 ora con 50  $\mu$ g/ml o 100  $\mu$ g/ml di estratti di semi e germogli (germogli di controllo - CS; germogli trattati con BS + C2 D - TS), quindi esposti per 4 ore con (lato destro) o senza (lato sinistro) 50 ng/ml di TNF- $\alpha$ . Test ANOVA a una via e test post-hoc di Dunnett: \* diverso da TNF- $\alpha$  50 ng/ml, \* $p < 0,05$ .

## Risultati

- ✓ I semi di *C. sativa* germogliati in condizioni BS + C2 D hanno mostrato un aumento del contenuto di polifenoli e flavonoidi, nonché una maggiore attività antiossidante e capacità di eliminazione dei radicali, rispetto al controllo.
- ✓ Gli estratti di semi e germogli di *C. sativa* non hanno influenzato la vitalità delle cellule A549 (dati non mostrati) e non hanno alterato l'espressione genica basale di IL-8 e COX-2, rispetto al controllo.
- ✓ L'esposizione di A549 a 50 ng/mL di TNF- $\alpha$  ha comportato una significativa up-regolazione dell'espressione genica di IL-8 ( $p < 0,001$ ) e COX-2 ( $p < 0,001$ ) rispetto alle cellule non trattate.
- ✓ Il pretrattamento dell'estratto di semi di *C. sativa* (100  $\mu$ g/ml) ha ridotto significativamente l'espressione di IL-8 e COX-2 nelle cellule infiammate dal TNF- $\alpha$ , mostrando discreti effetti antinfiammatori.
- ✓ L'estratto di germogli trattato, alla concentrazione più alta (100  $\mu$ g/ml), ha ridotto leggermente l'espressione di IL-8 in condizioni di infiammazione.

## Conclusioni

I germogli e i semi di *C. sativa* rappresentano un prezioso prodotto nutraceutico con potenziali applicazioni mediche e nutrizionali, utile nella prevenzione di malattie infiammatorie e associate allo stress ossidativo.

[andrea.cavallero@ibba.cnr.it](mailto:andrea.cavallero@ibba.cnr.it)  
[morena.gabriele@cnr.it](mailto:morena.gabriele@cnr.it)

