

<https://doi.org/10.15407/frg2021.05.406>

УДК 574.24+604.6

## ВПЛИВ АЗОТОВМІСНИХ СОЛЕЙ НА РІСТ І НАКОПИЧЕННЯ ФЛАВОНОЇДІВ У «БОРОДАТИХ» КОРЕНЯХ ЦИКОРІЮ

Н.А. МАТВЄЄВА<sup>1</sup>, А.С. МЕЛЬНИК<sup>1</sup>, В.П. ДУПЛІЙ<sup>1,2</sup>, Т.М. КИРПА<sup>1</sup>, М.В. КУЧУК<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України

03143 Київ, вул. Академіка Заболотного, 148

<sup>2</sup>Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України

03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17

e-mail: [duplijv@icbge.org.ua](mailto:duplijv@icbge.org.ua)

Вміст сполук азоту в ґрунті чи поживному середовищі може впливати на ріст рослин, культур коренів і клітин в умовах *in vivo* та *in vitro*. Разом з тим генетична трансформація з використанням ґрунтових фітопатогенних бактерій *Agrobacterium rhizogenes* здатна змінювати функціонування рослинних клітин, їх здатність до адаптації до умов вирощування та біосинтетичну активність. Метою роботи було визначення особливостей впливу зменшення вмісту азоту в поживному середовищі на ріст *in vitro* «бородатих» коренів *Cichorium intybus* L. У роботі використано лінії коренів, отримані нами раніше шляхом генетичної трансформації за допомогою *Agrobacterium rhizogenes* A4. Корені культивували на агаризованому поживному середовищі Мурасиге—Скута зі стандартним та зменшеним удвічі вмістом нітратів. Зразки характеризували за приростом маси сирої речовини, загальним вмістом флавоноїдів, антиоксидантною та відновлювальною активностями. Виявлено відмінності у швидкості росту коренів двох ліній. Одна з ліній була чутливою до такого зменшення, що виражалось у зниженні приросту маси у 3,4 раза. Ріст коренів другої лінії значуще не відрізнявся від контролю. Спостерігали зменшення загального вмісту флавоноїдів, антиоксидантної та відновлювальної активностей в обох зразках при культивуванні на середовищі зі зменшеним вмістом азоту. Такі відмінності, вірогідно, можуть бути пов'язані з особливостями генетичної трансформації ядерної ДНК з використанням агробактерій, за якої місце вбудовування перенесених генів не детерміноване, а також з особливостями функціонування «бородатих» коренів у культурі *in vitro*.

**Ключові слова:** «бородаті» корені, цикорій, азот, приріст маси, флавоноїди, антиоксидантна активність.

Давно відомо, що макроелементи відіграють вирішальну роль у рості та розвитку рослин. Зокрема, азот впливає на гомеостаз рослин, формування кореневої системи, довжину й масу коренів, та інші показники [1–3]. Так, встановлено, що в разі внесення азоту в ґрунт у кількості 240 кг/га активізувався ріст кореневої системи та збільшу-

Цитування: Матвєєва Н.А., Мельник А.С., Дуплій В.П., Кирпа Т.М., Кучук М.В. Вплив азотовмісних солей на ріст і накопичення флавоноїдів у «бородатих» коренях цикорію. *Фізіологія рослин і генетика*. 2021. 53, № 5. С. 406–414. <https://doi.org/10.15407/frg2021.05.406>

валася маса коренів рослин більш як на 30 % [4]. Азот відіграє значну роль і в координації системи корені—пагони та продуктивності рослин [5]. У нещодавно опублікованому дослідженні запропоновано модель впливу азоту на ріст кореневої системи [6].

Азот впливає не тільки на рослини, що вирощуються в природних умовах. Вміст сполук азоту може змінювати також ріст рослин, культур коренів і клітин в умовах *in vitro*. Так, встановлено вплив джерела азоту на ріст «бородатих» коренів і суспензійної культури *Calendula officinalis*, а також синтез у них сапоніну [7]. За підвищення вмісту азоту в нітратній формі виявлено збільшення вмісту алкалоїдів у «бородатих» коренях *Atropa belladonna* [8]. Джерело азоту також впливало на ріст коренів *Hypericum perforatum* у культурі *in vitro* та синтез вторинних метаболітів [9].

Метою роботи було визначення особливостей росту культури «бородатих» коренів цикорію (*Cichorium intybus* L.), вмісту флавоноїдів, а також рівня антиоксидантної та відновлювальної активностей за умов зменшеного удвічі вмісту нітратів у поживному середовищі.

## Методика

**Рослинний матеріал.** У роботі використано лінії «бородатих» коренів цикорію, отримані нами раніше шляхом генетичної трансформації за допомогою *Agrobacterium rhizogenes* A4 [10]. Корені вирощували на агаризованому поживному середовищі Мурасиге—Скуга (стандартне) та зі зменшеним удвічі вмістом нітратів (дослідне). Інші складові (розчини мікросолей, хелату феруму, вітамінів, сахарозу, агар) добавляли до середовищ в однакових кількостях за протоколом приготування середовища Мурасиге—Скуга. Корені вирощували у термостатованому приміщенні за температури +24 °C та освітлення 16 год світла/8 год темряви протягом двох місяців. Вплив складу середовища визначали за параметрами: приріст біомаси, вміст флавоноїдів, антиоксидантна активність, відновлювальна активність.

**Визначення приросту маси.** Перед початком експерименту в стерильних умовах визначали масу коренів, уміщених в одну чашку Петрі для подальшого культивування ( $m_0$ ). Після культивування протягом двох місяців корені відділяли від агару і зважували ( $m_1$ ). Приріст маси  $\Delta m$  визначали за формулою

$$\Delta m = m_1 - m_0.$$

**Приготування екстрактів.** Корені відділяли від агаризованого середовища, 0,3 г коренів розтирали у фарфоровій ступці з 3 мл 70 %-го етанолу, центрифугували упродовж 7—8 хв за 1500 об/хв (Eppendorf Centrifuge 5415C) та відбирали надосадову рідину, яку і використовували у подальших дослідженнях.

**Визначення вмісту флавоноїдів.** Вміст флавоноїдів визначали в екстрактах спектрофотометрично за методом [11] за довжини хвилі 510 нм та розраховували за калібрувальним графіком за рутином ( $y = 0,7267x$ ,  $R^2 = 0,9877$ ) у перерахунку на 1 г сирової речовини в рутиновому еквіваленті (PE).

**Визначення відновлювальної активності.** Для визначення відновлювальної активності спектрофотометрично вимірювали оптичну густину за довжини хвилі 700 нм, як описано раніше [12]. Відновлювальну активність оцінювали за показником  $EC_{0,5}$ , який розраховували за кількістю міліграмів зразка, внесеного в реакцію для отримання оптичної густини  $OD = 0,5$ .

**Визначення антиоксидантної активності.** Антиоксидантну активність визначали за здатністю відновлювати 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил-радикали [12]. Для приготування розчину 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу (DPPH) 4 мг цього реактиву розчиняли в 100 мл 96 %-го етанолу. Спектрофотометрично вимірювали оптичну густину суміші розчину DPPH та екстрактів (8, 16, 32, 64, 125 мкл екстрактів, загальний об'єм суміші 2 мл) за довжини хвилі 515 нм. Антиоксидантну активність оцінювали за показником  $EC_{50}$ , який визначали за кількістю міліграмів зразка, внесеного в реакцію, що викликало 50 %-ве інгібування активності радикалів.

**Статистичний аналіз.** Дослід проведено в 3—6 повтореннях. У тексті та на рисунках наведено усереднені значення  $\pm$  стандартна похибка. На нормальність вихідні значення для кожної групи перевіряли методом Шапіро, на рівність дисперсій — методом Левене. Для всіх значень крім приросту маси проводили дисперсійний аналіз та порівняння середніх методом Тьюкі. Для приросту маси використовували дисперсійний аналіз із поправкою на негомогенність та *t*-тест із поправкою на багаторазовість. Усі порівняння виконували на рівні значущості  $p < 0,05$ .

## Результати та обговорення

В експерименті використано дві трансгенні лінії коренів *S. intybus*. При вирощуванні коренів лінії 5/1 на середовищі зі зменшенням вмістом азоту спостерігали значне сповільнення росту порівняно з коренями, вирощеними на стандартному середовищі (рис. 1). Приріст маси ( $\Delta m$ ) у дослідному варіанті був у 3,4 раза меншим, ніж у контрольному ( $1,20 \pm 0,23$  г та  $4,09 \pm 0,84$  г відповідно) (рис. 2). Для лінії 5/2 значущих відмінностей у прирості маси коренів при вирощуванні на середовищі з різним вмістом азоту не спостерігали. Так, параметр  $\Delta m$  для коренів, вирощених на контрольному середовищі, становив  $0,72 \pm 0,08$  г, для коренів, вирощених на експериментальному середовищі —  $0,68 \pm 0,07$  г. Отже, виявлено відмінності в чутливості до складу середовища, зокрема до вмісту азоту, двох ліній «бородатих» коренів, отриманих при трансформуванні з використанням *A. rhizogenes*.

Вміст флавоноїдів у коренях цикорію лінії 5/1 у дослідному варіанті їх вирощування становив  $0,31 \pm 0,09$  мг РЕ/г сирової речовини, що в 4,9 раза менше, ніж у контрольному варіанті ( $1,51 \pm 0,28$  мг РЕ/г сирової речовини) (рис. 3). Загальний вміст флавоноїдів у коренях лінії 5/2 був меншим, ніж у лінії 5/1, однак зменшення загального вмісту флавоноїдів у дослідному варіанті порівняно з контрольним виявилось аналогічним ( $0,14 \pm 0,05$  та  $1,20 \pm 0,07$  мг РЕ/г сирової речовини).

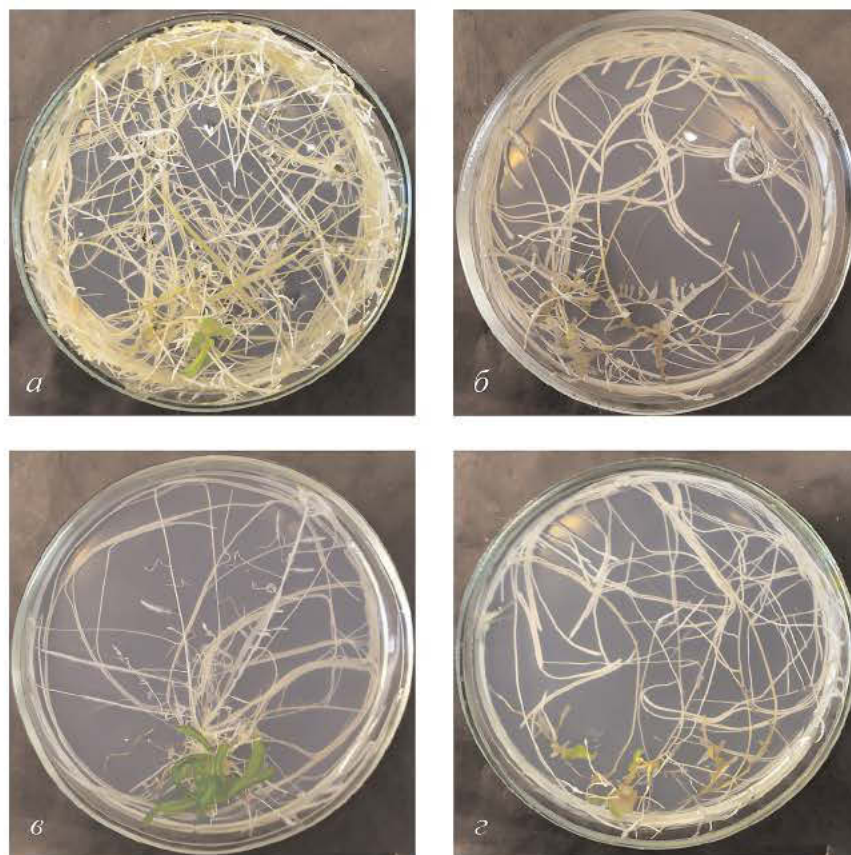


Рис. 1. Ріст коренів цикорію ліній 5/1 (а, б) та 5/2 (в, г) через два місяці культивування у контролі (а, в) та на поживному середовищі зі зменшеним вмістом нітратів (б, г)

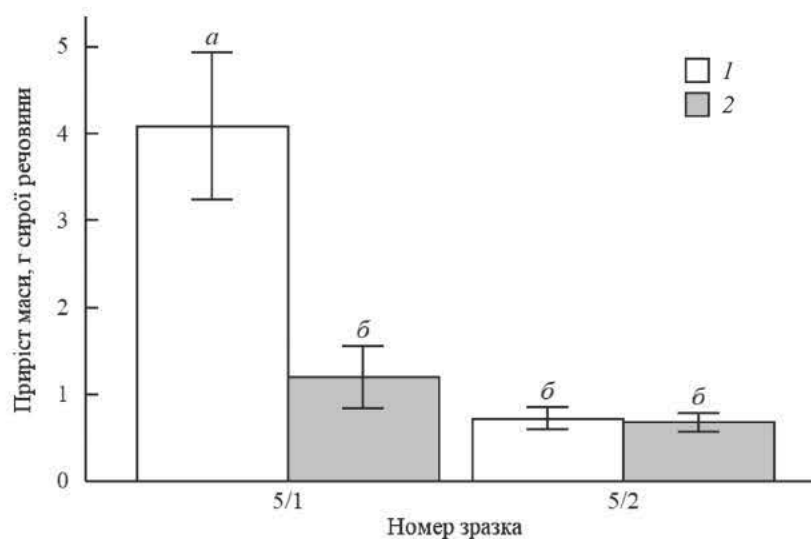


Рис. 2. Приріст маси сирої речовини трансгенних коренів через два місяці культивування у контролі та на поживному середовищі зі зменшеним вмістом нітратів. Тут і на рис. 3–5: 1 – стандартне середовище; 2 – дослідне. Однакові літери показують відсутність значущих відмінностей

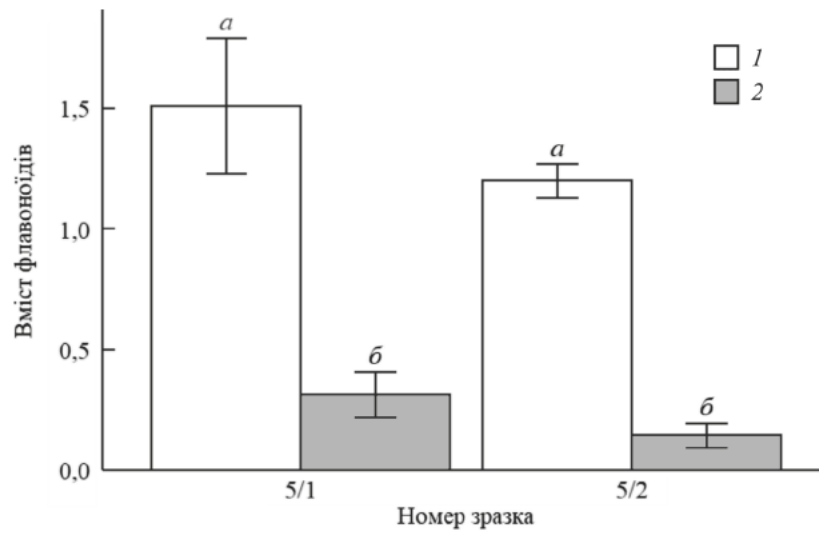


Рис. 3. Вміст флавоноїдів (мг РЕ/г сирової речовини) у трансгенних коренях цикорію, вирощених на середовищах із різним вмістом нітратів

Корені цикорію обох трансгенних ліній, вирощені на дослідному середовищі, характеризувалися нижчими антиоксидантною та відновлювальною активностями (рис. 4, 5), що виражалось у вищих значеннях показників еквівалентних концентрацій  $EC_{50}$  та  $EC_{0,5}$ . Зокрема, антиоксидантна активність коренів контрольних зразків ліній 5/1 і 5/2 виявилася відповідно у 2,4 та 2,5 раза вищою, ніж дослідних. Відновлювальна активність, визначена за параметром еквівалентної концентрації, в екстрактах із коренів контрольних зразків ліній 5/1 і 5/2 була відповідно в 1,8 та 1,7 раза вищою, ніж дослідних.

Отже, зменшення вмісту азоту в середовищі призвело до значного зменшення вмісту флавоноїдів у коренях цикорію. Аналіз публіка-

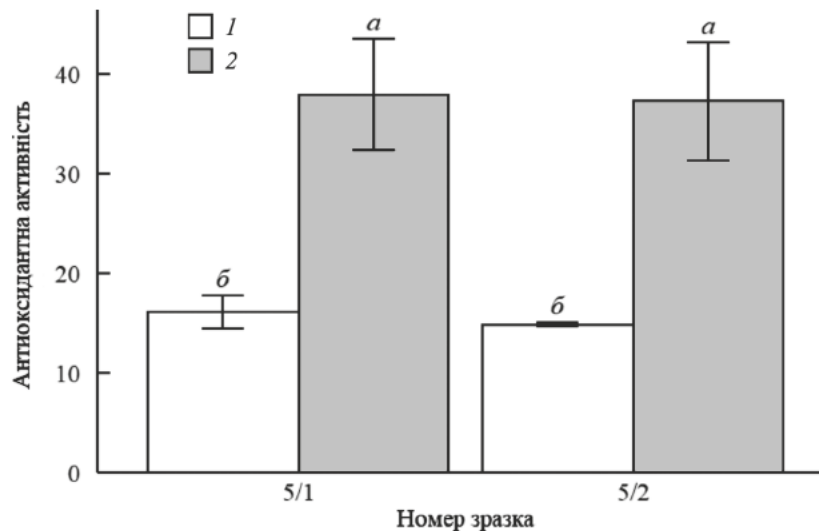


Рис. 4. Антиоксидантна активність ( $EC_{50}$  мг/г сирової речовини) екстрактів із трансгенних коренів цикорію, вирощених на середовищах зі стандартним і зменшеним вмістом нітратів

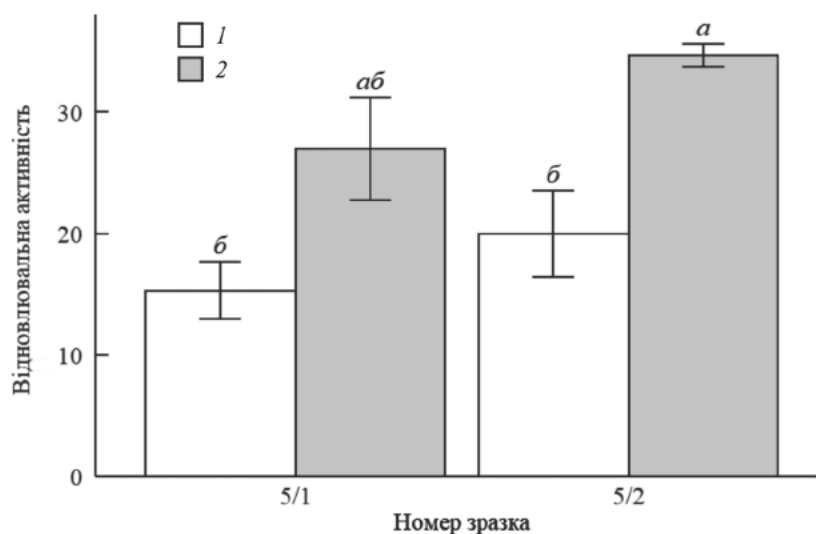


Рис. 5. Відновлювальна активність ( $EC_{0,5}$  мг/г сирової речовини) екстрактів із «бородатих» коренів цикорію, вирощених на середовищах зі стандартним і зменшеним вмістом нітратів

цій стосовно впливу вмісту азоту в ґрунті на синтез флавоноїдів у рослинах, культивованих *in vivo*, показав виявлену в низці досліджень негативну кореляцію між цими параметрами [13]. Так, встановлено, що збільшення кількості внесеного в ґрунт азоту призвело до зменшення вмісту флавоноїдів, антоціаніну, аскорбінової кислоти у рослинах *Labisia pumila*, причому гальмування синтезу вторинних метаболітів і вітамінів супроводжувалося спаданням антиоксидантної активності. Автори праці [14] виявили, що дефіцит азоту в ґрунті підвищив рівень загальних флавоноїдів у томатах на 14 %. У рослинах грейпфруту кількість нарингіну та рутинозиду зменшувалась зі збільшенням надходження азоту до рослин [15]. Автори публікації [16] виявили, що вміст флавоноїдів у яблуках зменшувався зі збільшенням вмісту азоту в ґрунті. Отримані нами дані підтвердили, що вплив концентрації азоту на «бородаті» корені, які ростуть на безгормональному середовищі в культурі *in vitro* й не піддаються дії фітогормонів, синтезованих у надземній частині рослин, принципово відрізняються від описаного в публікаціях [14–16] для дослідів *in vivo*. Водночас слід зазначити, що в низці досліджень виявлено негативну залежність між вмістом азоту в середовищі та синтезом вторинних метаболітів у зразках, культивованих *in vitro*. Так, у разі зменшення вмісту амонію та збільшення вмісту нітратів синтез три-терпеноїдів *in vitro* у суспензійній культурі *Gymnema sylvestre* [17] та у «бородатих» коренях *Withania somnifera* стимулювався [18]. Зменшення концентрації нітратів у культуральному середовищі приводило до збільшення вмісту піретрину в культурі клітин хризантеми [19]. Разом з тим вважають, що такі ефекти є видо- та лінієспецифічними.

Отже, ми продемонстрували негативний вплив зменшення вмісту азотовмісних солей на ріст і функціонування «бородатих» ко-

ренів цикорію. Цей вплив виявлявся у пригніченні росту (для лінії 5/1), зменшенні загального вмісту флавоноїдів, антиоксидантної та відновлювальної активностей. Разом з тим слід підкреслити особливість росту коренів лінії 5/2, приріст маси сирої речовини яких не залежав від зміни складу середовища. Такі відмінності, вірогідно, можуть бути пов'язані з особливостями генетичної трансформації ядерної ДНК з використанням агробактерій, за якої місце вбудовування перенесених генів недетерміноване. Через різні місця вбудовування чужорідних генів з'являються відмінності у функціонуванні інших генів геному, що може виявлятися у появі фенотипних відмінностей коренів різних ліній (різний ступінь галузнення, забарвлення, товщина коренів, наявність кореневих волосків тощо), а також фізіологічних та інших параметрів. Зокрема, раніше [20, 21] ми визначили фізіологічні відмінності трансгенних коренів полинів, які вирощували за однакових стандартизованих умов. Вони відрізнялися як за швидкістю росту, так і за вмістом вторинних метаболітів (флавоноїдів та артемізиніну). Крім того, екстракти з різних зразків (різних ліній «бородатих» коренів) відрізнялися також за біологічною активністю (антиоксидантною та відновлювальною). Отримані дані свідчать про значний вплив генетичної трансформації на функціонування рослинних клітин, що вірогідно, зумовлено перенесеними генами, причому у трансформованих зразках порівняно з контрольними можуть відбуватися фізіологічні зміни, зокрема, чутливості до складу поживного середовища. Ці зміни не лише мають фундаментальне значення для з'ясування особливостей функціонування трансформованих клітин, а й можуть знайти практичне застосування, оскільки «бородаті» корені придатні як джерело природно синтезованих біоактивних сполук рослинного походження.

Таким чином, встановлено функціональну необхідність азотвмісних солей для нормального росту і синтетичної активності «бородатих» коренів. Отримані результати можуть бути використані у процесі оптимізації умов вирощування «бородатих» коренів цикорію з метою активізації росту та підвищення їхньої біосинтетичної активності.

Робота виконана за підтримки гранту Національної академії наук України № 34 (II-2-21) та частково гранту Національного фонду досліджень України (№ 2020.01/0301).

#### REFERENCES

1. Fan, J.B., Zhang, Y.L., Turner, D., Duan, Y.H., Wang, D.S. & Shen, Q.R. (2010). Root Physiological and Morphological Characteristics of Two Rice Cultivars with Different Nitrogen-Use Efficiency. *Pedosphere*, 20, No. 4, pp. 446-455.
2. Kłikocka, H., Cybulska, M., Barczak, B., Narolski, B., Szostak, B., Kobińska, A., Nowak, A. & Wojcik, E. (2016). The effect of sulphur and nitrogen fertilization on grain yield and technological quality of spring wheat. *Plant, Soil and Environment*, 62, No. 5, pp. 230-236.
3. Mohd-Radzman, N.A., Djordjevic, M.A. & Imin, N. (2013). Nitrogen modulation of legume root architecture signaling pathways involves phytohormones and small regulatory molecules. *Frontiers in Plant Science*, 4, No. OCT, p. 385.



4. Chen, J., Liu, L., Wang, Z., Zhang, Y., Sun, H., Song, S., Bai, Z., Lu, Z. & Li, C. (2020). Nitrogen Fertilization Increases Root Growth and Coordinates the Root–Shoot Relationship in Cotton. *Frontiers in Plant Science*, 11, p. 880.
5. Gu, J., Li, Z., Mao, Y., Struik, P.C., Zhang, H., Liu, L., Wang, Z. & Yang, J. (2018). Roles of nitrogen and cytokinin signals in root and shoot communications in maximizing of plant productivity and their agronomic applications. *Plant Science*, 274, pp. 320-331.
6. Otvos, K., Marconi, M., Vega, A., O'Brien, J., Johnson, A., Abualia, R., Antonielli, L., Montesinos, J.C., Zhang, Y., Tan, S., Cuesta, C., Artner, C., Bouguyon, E., Gojon, A., Friml, J., Gutierrez, R.A., Wabnik, K. & Benkova, E. (2021). Modulation of plant root growth by nitrogen source-defined regulation of polar auxin transport. *The EMBO Journal*, 40, No. 3, p. e106862.
7. Dlugosz, M., Markowski, M. & Paczkowski, C. (2018). Source of nitrogen as a factor limiting saponin production by hairy root and suspension cultures of *Calendula officinalis* L. *Acta Physiol. Plant.*, 40, No. 2, p. 35.
8. Chashmi, N.A., Sharifi, M., Karimi, F. & Rahnama, H. (2010). Differential production of tropane alkaloids in hairy roots and in vitro cultured two accessions of *Atropa belladonna* L. under nitrate treatments. *Zeitschrift fur Naturforschung – Section C Journal of Biosciences*, 65, No. 5-6, pp. 373-379.
9. Cui, X.-H., Murthy, H.N., Wu, C.-H. & Paek, K.-Y. (2010). Adventitious root suspension cultures of *Hypericum perforatum*: effect of nitrogen source on production of biomass and secondary metabolites. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant* 2010 46:5, 46, No. 5, pp. 437-444.
10. Matvieieva, N.A., Shachovsky, A.M., Gerasymenko, I.M., Kvasko, O.Y. & Kuchuk, N.V. (2009). Agrobacterium-mediated transformation of *Cichorium intybus* L. with interferon- $\alpha$ 2b gene. *Biopolymers and Cell*, 25, No. 2, pp. 120-125.
11. Pekal, A. & Pырzyska, K. (2014). Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods* 2014 7:9, 7, No. 9, pp. 1776-1782.
12. Matvieieva, N.A., Morgun, B. V., Lakhneko, O.R., Duplij, V.P., Shakhovsky, A.M., Ratushnyak, Y.I., Sidorenko, M., Mickevicius, S. & Yevtushenko, D.P. (2020). Agrobacterium rhizogenes-mediated transformation enhances the antioxidant potential of *Artemisia tilesii* Ledeb. *Plant Physiology and Biochemistry*, 152, pp. 177-183.
13. Ibrahim, M.H., Jaafar, H.Z.E., Rahmat, A. & Rahman, Z.A. (2012). Involvement of Nitrogen on Flavonoids, Glutathione, Anthocyanin, Ascorbic Acid and Antioxidant Activities of Malaysian Medicinal Plant *Labisia pumila* Blume (Kacip Fatimah). *International Journal of Molecular Sciences*, 13, No. 1, pp. 393-408. <https://doi.org/10.3390/ijms13010393>
14. Bongue-Bartelsman, M. & Phillips, D.A. (1995). Nitrogen stress regulates gene expression of enzymes in the flavonoid biosynthetic pathway of tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 33, No. 5, pp. 539-546.
15. Patil, B.S. & Alva, A.K. (1999). Enhancing citrus nutraceuticals through variable nutrient rates. *Horticultural Science*, 34, p. 520.
16. Awad, M.A. & Jager, A. De (2002). Relationships between fruit nutrients and concentrations of flavonoids and chlorogenic acid in 'Elstar' apple skin. *Scientia Horticulturae*, 92, No. 3–4, pp. 265-276.
17. Praveen, N., Murthy, H.N. & Chung, I.M. (2011). Improvement of growth and gynemic acid production by altering the macro elements concentration and nitrogen source supply in cell suspension cultures of *Gymnema sylvestre* R. Br. *Industrial Crops & Products*, 2, No. 33, pp. 282-286.
18. Praveen, N. & Murthy, H.N. (2012). Withanolide A production from *Withania somnifera* hairy root cultures with improved growth by altering the concentrations of macro elements and nitrogen source in the medium. *Acta Physiologiae Plantarum* 2012 35:3, 35, No. 3, pp. 811-816.
19. Rajashekar, T., Rajendran, L., Ravishankar, G. & Venkataraman, L. (1991). Influence of nutrient stress on pyrethrin production by cultured cells of pyrethrum (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). *Current Science*, 60, No. 12, pp. 705-707.
20. Matvieieva, N., Drobot, K., Duplij, V., Ratushniak, Y., Shakhovsky, A., Kyрpa-Nesmiian, T., Mickevicius, S. & Brindza, J. (2019). Flavonoid content and antioxidant



- activity of *Artemisia vulgaris* L. «hairy» roots. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 49, No. 1, pp. 82-87.
21. Matvieieva, N., Shutava, H., Shysh, S., Drobot, K., Ratushnyak, Y. & Duplij, V. (2018). Alterations in the Antioxidant Status of Transgenic Roots of *Artemisia* spp. Representatives after *A. rhizogenes*-Mediated Genetic Transformation. *Cytology and Genetics*, 52, No. 4, pp. 253-259.

Received 10.09.2021

#### INFLUENCE OF NITROGEN-CONTAINING SALTS ON THE GROWTH AND ACCUMULATION OF FLAVONOIDS IN «HAIRY» ROOTS OF CHICORY

*N.A. Matvieieva<sup>1</sup>, A.S. Melnyk<sup>1</sup>, V.P. Duplij<sup>1,2</sup>, T.M. Kyrpa<sup>1</sup>, M.V. Kuchuk<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine

148 Akademika Zabolotnoho St., Kyiv, 03143, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine

31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

e-mail: duplijv@icbge.org.ua

The content of nitrogen compounds in the soil or nutrient medium can alter the growth of plants, root cultures, and cells both in vivo and in vitro. However, genetic transformation using soil phytopathogenic bacteria *Agrobacterium rhizogenes* can lead to changes in the functioning of plant cells, their ability to adapt to growing conditions, and biosynthetic activity. The aim of the study was to determine the effects of reducing the content of nitrate salts in the nutrient medium on the growth of «hairy» roots of *Cichorium intybus* L. in vitro. We used two root lines obtained earlier by genetic transformation of chicory plants using *A. rhizogenes* A4. The roots were cultured on solidified Murashige and Skoog nutrient medium with standard and halved nitrate salts content. «Hairy» roots growth was characterized by fresh weight gain, total flavonoid content, antioxidant and reducing activity. Differences in the growth rate of the roots of the two lines were revealed. One line was sensitive to such change of the medium, which was expressed in a decrease of weight gain. However, the growth of the «hairy» roots of the second line on the modified medium did not differ significantly from the control. It should be noted that a decrease in the total content of flavonoids, antioxidant and reducing activity was observed in both samples. Such differences are likely to be related to the peculiarities of the genetic transformation of nuclear DNA using agrobacteria, in which the site of incorporation of transferred genes is indetermined.

**Key words:** «hairy» roots, chicory, nitrogen, weight gain, flavonoids, antioxidant activity.