

МАТВЄЄВА Н.А.<sup>1</sup>, ГАВРИЛЮК О.А.<sup>2✉</sup>, ЯСТРЕМСЬКА Л.С.<sup>2</sup><sup>1</sup> Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Україна, 03680, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 148, e-mail: joyna56@gmail.com<sup>2</sup> Національний авіаційний університет,

Україна, 03058, м. Київ, пр. Космонавта Комарова, 1, e-mail: gav\_olesya@ukr.net

✉ gav\_olesya@ukr.net, (093) 766-13-77, (096) 929-25-69

ВПЛИВ ЗНИЖЕНОЇ ТЕМПЕРАТУРИ НА СИНТЕЗ ФЛАВОНОЇДІВ У КУЛЬТУРАХ «БОРОДАТИХ» КОРЕНІВ *ARTEMISIA VULGARIS* L. ТА *ARTEMISIA ANNUA* L.

**Мета.** Метою роботи було дослідження короткочасного впливу температурного стресу (+10°C) на ріст, синтез флавоноїдів та антиоксидантну активність у культурах «бородатих» коренів рослин *Artemisia vulgaris* L. та *Artemisia annua* L. **Методи.** Трансформовані корені культивували за температури +10°C протягом перших 1, 3 та 5 діб на живильному середовищі Мурасіге та Скуга зі зменшеним удвічі вмістом макросолей. Концентрацію флавоноїдів визначали з використанням реакції спиртових екстрактів з AlCl<sub>3</sub>. Антиоксидантну активність визначали за допомогою методу DPPH. **Результати.** Дія стресового фактора призводила до зменшення приросту маси культур коренів на 12–76%. Вміст флавоноїдів у «бородатих» коренях становив від 32,0±3,13 до 187,0±21,04 мг RE /г сухої маси. Зниження температури призводило до зменшення вмісту флавоноїдів у культурах «бородатих» коренів № 1, № 2 *A. vulgaris* та № 5 *A. annua* на 18–33%. Водночас реакція коренів культур № 3 *A. vulgaris* та № 4 *A. annua* виражалася у збільшенні вмісту флавоноїдів на 62% та 56,5% відповідно. Культивування за зниженої температури призводило до зменшення рівня антиоксидантної активності у досліджуваних культурах «бородатих» коренів на 4–40%. **Висновки.** Низькотемпературний стрес негативно впливав на ріст «бородатих» коренів, стимулював синтез флавоноїдів лише у двох лініях коренів та знижував рівень антиоксидантної активності.

**Ключові слова:** культури «бородатих коренів», *Artemisia* spp., низькотемпературний стрес, флавоноїди, антиоксидантна активність.

Здатність рослин накопичувати біологічно активні речовини (БАР) використовується у біотехнології та фармакології для отримання цінних речовин (антиоксидантів, алкалоїдів, сапонінів, флавоноїдів та інших сполук) [1].

Наявність стресових чинників може призводити до змін у накопиченні БАР у рослинах. До таких чинників відносять низьку або високу температуру, УФ-випромінювання, посуху, перезволоження ґрунту, патогенні мікроорганізми, токсичні метали та ін. [2]. Низька температура є одним із абіотичних стресів, що викликають фізіологічні зміни у рослинах [3]. Дія низьких температур може призвести до негативних змін, які виражаються у погіршенні проростання насіння, хлорозі листя, в'яненні рослин, пошкодженні структури клітин, що, у свою чергу, спричинює зниження врожайності [4]. Короткочасне або некритичне зниження температури не призводить до значного пошкодження рослин, однак може спричинити зміни у синтезі вторинних метаболітів та інших сполук. Так, дослідження *in vitro* показали, що підвищення вмісту флавоноїдів у рослинах *Arabidopsis thaliana* є наслідком дії зниженої температури [5, 6]. У більшості випадків для визначення впливу стресових факторів досліджують реакцію надземної частини рослин [1, 5–7], проте відповідь коренів рослин на дію абіотичних стресів, у тому числі зниженої температури, і досі залишається малодослідженою.

Особливий інтерес становить визначення впливу абіотичних стресів на синтез вторинних метаболітів у лікарських рослинах. Рослини роду *Artemisia* є лікарськими та традиційно використовуються в медицині. З різних видів полину виділено антиоксиданти, флавоноїди та інші біологічно активні сполуки [8]. Встановлено, що трансгенні рослини та «бородаті» корені *Artemisia* можуть накопичувати біологічно-активні речовини у значно більшій кількості, ніж вихідні нетрансформовані рослини, що зумовлено перенесенням у геном рослини чужорідних генів шляхом трансформації та їх впливом на активність власних генів рослин [9]. Так, встановлено, що трансгенні рослини *A. dubia*,

© МАТВЄЄВА Н.А., ГАВРИЛЮК О.А., ЯСТРЕМСЬКА Л.С.

що були отримані за допомогою *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404, синтезують на 71% більше флавоноїдів у порівнянні з контролем [10]. Водночас визначено, що збільшення інтенсивності світлового опромінення стимулює ріст та накопичення артемізіну у «бородатих» коренях *A. annua* [11]. Раніше нами було показано, що за впливу зниженої температури пригнічується ріст та зменшується вміст флавоноїдів у «бородатих» коренях рослин *A. tilesii* [12]. Однак і досі залишається нез'ясованою реакція культур «бородатих» коренів інших видів полину на дію низької температури.

У зв'язку з цим метою нашої роботи було визначення впливу короткочасного культивування «бородатих» коренів *A. vulgaris* та *A. annua* за температури +10°C на ріст, синтез флавоноїдів та антиоксидантну активність.

### Матеріали і методи

Вихідним матеріалом слугували «бородаті» корені, що були отримані нами раніше [9] шляхом *A. rhizogenes*-опосередкованої трансформації. Їх вирощували на чашках Петрі на агаризованому живильному середовищі Мурасіге-Скуга зі зменшеною удвічі концентрацією макросолей (1/2MS, рН = 5,75) [13]. Для визначення впливу короткотермінового стресу корені культивували за температури +10°C протягом 1, 2 та 5 діб. Після цього їх переносили в контрольні умови вирощування (до чотирьох тижнів за температури 24°C). Приріст маси визначали як різницю маси коренів через чотири тижні культивування та початкової маси. Для отримання екстрактів корені гомогенізували у 70% етанолі. Отриманий гомогенат кількісно переносили в пробірки, центрифугували в мікроцентрифузі «Eppendorf Centrifuge 5415 C» за 4 000 г протягом 10 хв. Вміст флавоноїдів визначали за допомогою якісної реакції з  $AlCl_3$ . Для цього відбирали 0,5 мл супернатанту екстракту, додавали 2,0 мл бідистильованої води, 0,15 мл 5% розчину  $NaNO_2$  та витримували 5 хвилин. До суміші додавали 0,15 мл 10% розчину  $AlCl_3$ . Після цього вносили 1,0 мл 1М  $NaOH$  та 1,2 мл бідистильованої води. За наявності флавоноїдів у досліджуваних екстрактах з'являлося малинове забарвлення. Визначення інтенсивності забарвлення проводили через 30 хв. на спектрофлуориметрі «Флюорат-02-Панорама» за довжини хвилі  $\lambda = 510$  нм. Для отримання розчину порівняння проводили описану вище реакцію з використанням 0,5 мл 70% етанолу замість екстракту

з рослин. Калібровку проводили, використовуючи рутин у концентраціях 0,125, 0,25, 0,5 та 1,0 мг/мл. Вміст флавоноїдів виражали у мг/г сухої маси коренів у рутиновому еквіваленті (RE). Антиоксидантну активність (АОА) спиртових екстрактів із «бородатих» коренів досліджували за допомогою DPPH-методу, використовуючи стандартну методику [14]. Оптичну густину розчинів визначали за допомогою спектрофотометра «Eppendorf BioPhotometer plus» за довжини хвилі  $\lambda = 550$  нм. Статистичну обробку результатів проводили з використанням пакетів прикладної програми Microsoft Excel ( $P < 0,05$ ).

### Результати та обговорення

Було визначено, що культури «бородатих» коренів рослин *A. vulgaris* (№ 1, № 2, № 3) та *A. annua* (№ 4, № 5) відрізнялися як за швидкістю росту (рис. 1), так і за синтезом флавоноїдів (рис. 2) та рівнем антиоксидантної активності (рис. 3). За контрольних умов вирощування (+24 °C) маса коренів ліній №1 та № 3 *A. vulgaris* була у 2–2,5 раза меншою, ніж маса коренів ліній № 2, а також коренів ліній *A. annua* № 4 та № 5 (рис. 1). Водночас реакція «бородатих» коренів обох видів була схожою за відповіддю на дію короткотривалого зниження температури та виражалася у пригніченні росту коренів на 12–76%. Найменш чутливою виявилася культура № 1 *A. vulgaris*, оскільки вирощування протягом нетривалого періоду за зниженої температури не пригнічувало її ріст. Серед досліджуваних рослин за приростом маси відрізнялася культура № 5 *A. annua*, оскільки за одноденного зниження температури відбувалася навіть стимуляція росту на 28% (рис. 1).

Отже, реакція культур «бородатих» коренів *A. vulgaris* та *A. annua* на дію низькотемпературного стресу була схожою за приростом маси до реакції раніше досліджених культур «бородатих» коренів *A. tilesii* [12] і виражалася загалом у пригніченні росту коренів, особливо за збільшення часу дії фактора з однієї доби до п'яти діб.

Досліджувані у цій роботі корені двох видів (*A. vulgaris* та *A. annua*) також відрізнялися за вмістом флавоноїдів за вирощування за контрольних умов. Найбільший вміст флавоноїдів виявлено у трансформованих коренях лінії № 2 *A. vulgaris*, що становив  $187,0 \pm 21,04$  мг RE/г, найменший – у лінії № 4 *A. annua* –  $32,0 \pm 3,13$  мг/г, що майже у 6 разів менше, ніж у коренях лінії № 2 (рис. 2).

Лінії коренів № 1 та № 2 *A. vulgaris*, а також № 5 *A. annua* були схожими за відповіддю на дію зниженої температури, що виражалось в зменшенні вмісту флавоноїдів на 18–33%. Цілком очікуваним виявилось зниження вмісту флавоноїдів у цих культурах за п'ятиденного впливу зниженої температури. Так, концентрація флавоноїдів у коренях № 2 *A. vulgaris* зменшилася від  $187,0 \pm 21,04$  до  $125,0 \pm 2,12$  мг RE /г після культивування протягом перших п'яти діб за температури  $+10^\circ\text{C}$ . Однак реакція коренів

ліній № 3 *A. vulgaris* та № 4 *A. annua* відрізнялася від описаного вище, оскільки за одnodенної або дводенної дії зниженої температури спостерігалось збільшення вмісту флавоноїдів на 62% та 56,5% відповідно.

Трансформовані корені під час вирощування за контрольних умов ( $+24^\circ\text{C}$ ) відрізнялися за рівнем антиоксидантної активності, який коливався у межах  $66 \pm 2,38\%$  –  $86,0 \pm 1,5\%$  (рис. 3). Водночас відповідь різних ліній коренів на дію температурного стресу ( $+10^\circ\text{C}$ ) була схожою.

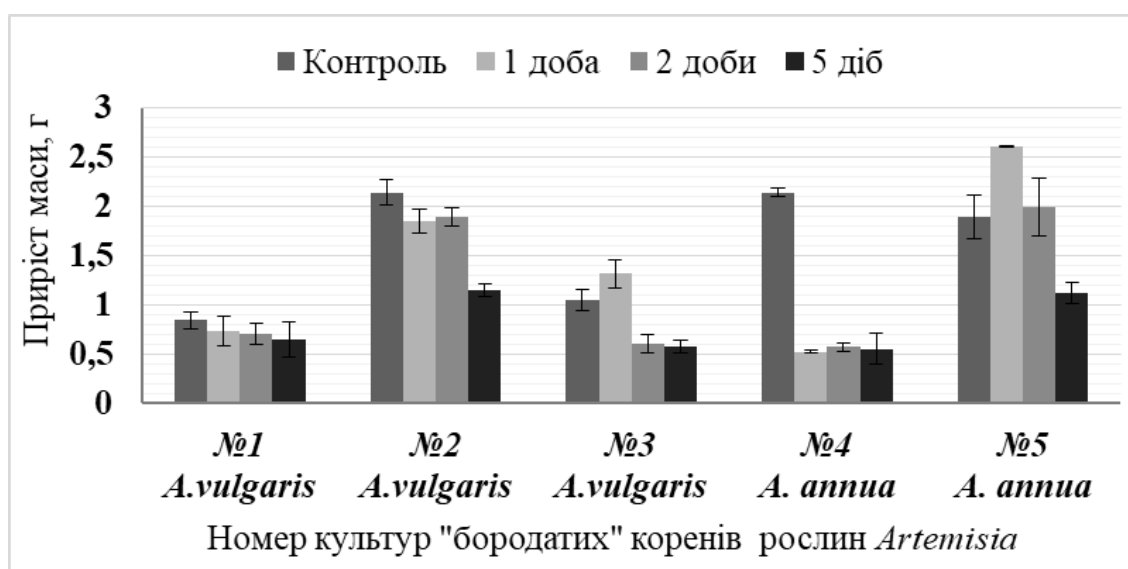


Рис. 1. Ріст культур «бородатих» коренів рослин *A. vulgaris* та *A. annua* під дією низькотемпературного стресу.

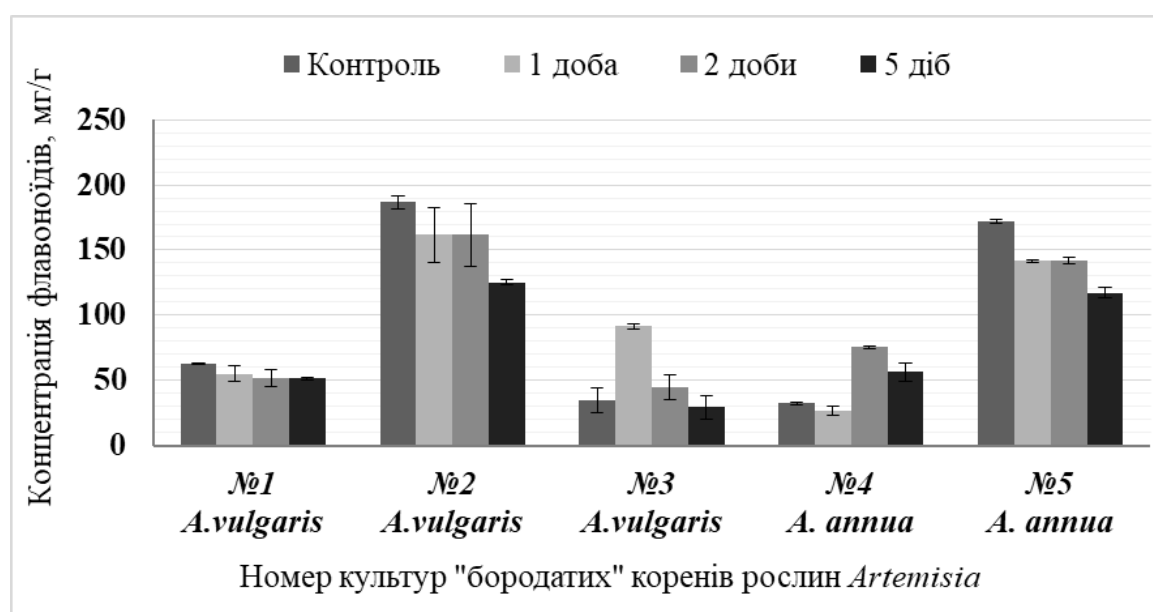


Рис. 2. Вплив температурного стресу на накопичення флавоноїдів у культурах «бородатих» коренів рослин *A. vulgaris* та *A. annua*.

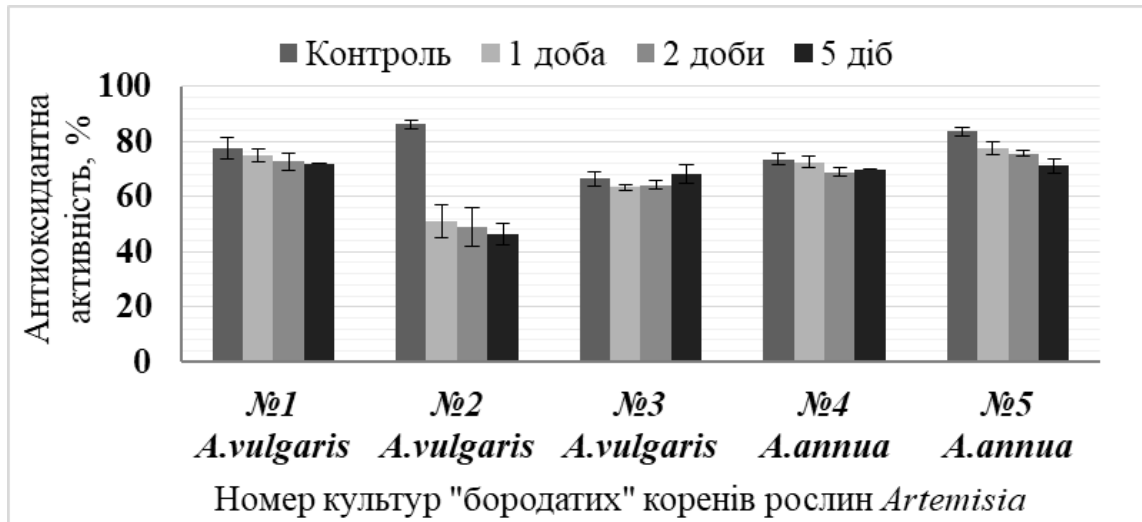


Рис. 3. Зниження рівня антиоксидантної активності екстрактів із культур «бородатих» коренів рослин *A. vulgaris* та *A. annua* за дії температурного стресу.

Так, реакція коренів ліній № 1, № 2, № 4 та № 5 виражалася у зниженні рівня антиоксидантної активності за п'ятидобового вирощування за температури  $+10^{\circ}\text{C}$ . Зокрема, АОА екстракту з коренів № 2 та № 5 зменшилася на 40% та 12% відповідно. Водночас достовірних змін рівня антиоксидантної активності коренів лінії № 3 за впливу температури  $+10^{\circ}\text{C}$  не виявлено (рис. 3).

Питання вивчення впливу стресів різного походження на вміст біологічно активних сполук, у тому числі флавоноїдів, у рослинах становить інтерес для багатьох сучасних дослідників [2–7, 9–12]. Встановлено, що інтенсивне накопичення червоних або фіолетових флавоноїдів у рослинах є ознакою стресових ситуацій [15]. Флавоноїди беруть участь у фотозахисті рослин. Світловий стрес, незалежно від відносних пропорцій сонячних хвильових діапазонів, що надходили до поверхні листків, підвищував біосинтез флавоноїдних глікозидів у листі рослин *Ligustrum vulgare* [16]. Вплив УФ-опромінення продемонстровано в дослідженнях із мутантами *Arabidopsis*: високий рівень флавоноїдів виявлено в мутантах, стійких до летальних доз UV-B світла [17]. Серед поширених стресових факторів є дія знижених температур. Так, після дії зниженої температури спостерігали підвищення вмісту флавоноїдів у рослинах дикого типу *Arabidopsis thaliana* [5, 6]. Доведено можливість підвищення рівня вторинних метаболітів у надземній частині рослин *A. annua* за впливу абіотичних факторів [10].

Рослини роду *Artemisia* є цінним джере-

лом флавоноїдів та антиоксидантів [18 – 21]. Вміст флавоноїдів у рослинах полину коливається від десятків до сотень мг/г маси. Найпоширенішим джерелом флавоноїдів є надземна частина рослини (пагони та листя). Так, на прикладі рослин *A. abrotanum* та *A. pallens* показано, що концентрація флавоноїдів у надземній частині рослин становить  $11,0 \pm 0,025$  та  $11,55 \pm 0,006$  мг/г абсолютно сухої маси у рутиновому еквіваленті відповідно [18]. Вміст флавоноїдів у листі рослин *A. annua*, визначений у різних експериментах, становив  $2121,56 \pm 358,46$  мкг/г та 5...40 мг/100 г сухої маси [19, 20]. Є лише поодинокі літературні дані щодо дослідження концентрації флавоноїдів у коренях рослин полину [21, 22]. Так, концентрація апігенину у коренях рослин *A. montana* Rampr. становила від 21,2 до 29,5 мг/100 г при вирощуванні за температури 15 та  $30^{\circ}\text{C}$  відповідно [21]. Крім того, вміст флавоноїдів у коренях іншого виду полину – *A. pallens* – становив 21,11 мг/г абсолютно сухої маси у кверцетиновому еквіваленті [22].

Раніше нами було показано, що за впливу зниженої температури пригнічується ріст та накопичення флавоноїдів у «бородатих» коренях рослин *Artemisia tilesii* [12]. У представлених дослідженнях також було виявлено негативний вплив короткочасного вирощування «бородатих» коренів *A. vulgaris* та *A. annua* за зниженої температури, який для більшості ліній виявлявся у пригніченні росту та зменшенні вмісту флавоноїдів. Однак результати експериментів свідчать також і про те, що досліджувані лінії коренів відрізняються за чутливістю до

зниженої температури. Свідченням цього є той факт, що, наприклад, приріст маси двох ліній коренів (№ 3 та № 5) не зменшувався за вирощування коренів за зниженої температури. Становить також інтерес підвищення вмісту флавоноїдів у двох лініях за умови нетривалої (1–2 доби) дії зниженої температури.

### Висновки

Культури «бородатих» коренів *A. vulgaris* та *A. annua* відрізнялися за чутливістю до короткотермінового зниження температури до +10°C. Дія стресового фактора призводила до зменшення приросту маси на 12–76%. Серед досліджуваних рослин за приростом маси відрізнялася культура № 5 *A. annua*, оскільки виявлена стимуляція росту на 28% за умов одноденного вирощування за температури +10°C.

Культури «бородатих» коренів також відрізнялися за вмістом флавоноїдів, який становив від 32,0±3,13 мг/г до 187,0±21,04 мг/г у рутинному еквіваленті. Зниження температури приз-

водило до зменшення вмісту флавоноїдів у лініях «бородатих» коренів № 1 та № 2 *A. vulgaris*, а також № 5 *A. annua* на 18–33%. Однак іншою була реакція коренів ліній № 3 *A. vulgaris* та № 4 *A. annua*, у яких за умов одноденного та дводенного вирощування за температури +10°C спостерігалось збільшення кількості флавоноїдів на 62% та 56,5% відповідно.

Зниження температури призводило до зниження рівня антиоксидантної активності у всіх досліджуваних лініях «бородатих» коренів на 4–40%, окрім лінії № 3 *A. vulgaris*, для якої не виявлено достовірних змін рівня АОА як протягом однієї та двох діб, так і за п'ятиденного вирощування за температури +10°C.

Отже, стрес, спричинений зниженою температурою, призводив до пригнічення росту «бородатих» коренів, стимулював синтез флавоноїдів лише у двох культурах коренів та знижував рівень антиоксидантної активності (за винятком однієї лінії коренів).

### Література

1. Savithramma N., Linga Rao M., Suvrulatha D. Screening of Medicinal Plants for Secondary Metabolites. *Middle-East J. Sci. Res.* 2011. Vol. 8, No. 3. P. 579–584.
2. Ramakrishna A., Ravishankar G. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signal Behav.* 2011. Vol. 6, No. 11. P. 1720–1731. doi: 10.4161/psb.6.11.17613.
3. Sanghera G.S., Shabir H.W., Hussain W., Singh N.B. Engineering Cold Stress Tolerance in Crop Plants. *Curr Genomics.* 2011. Vol. 12, No. 1. P. 30–43. doi: 10.2174/138920211794520178.
4. Yadav S.K. Cold stress tolerance mechanisms in plants. *Agron. Sustain. Dev.* 2010. Vol. 30. P. 515–527. doi: 10.1051/agro/2009050.
5. Schulz E., Tohge T., Zuther E., Fernie A.R., Hinch D.K. Flavonoids are determinants of freezing tolerance and cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6, No. 34027. doi: 10.1038/srep34027.
6. Schulz, E., Tohge T., Zuther E., Fernie A.R., Hinch D.K. Natural variation in flavonol and anthocyanin metabolism during cold acclimation in *Arabidopsis thaliana* accessions. *Plant Cell Environ.* 2015. Vol. 38, No. 8. P. 1658–1672.
7. Fini A., Brunetti C., Ferdinando M., Ferrini F., Tattini M. Stress-induced flavonoid biosynthesis and the antioxidant machinery of plants. *Plant Signal Behav.* 2011. Vol. 6, No. 5. P. 709–711. doi: 10.4161/psb.6.5.15069.
8. Aftab T., Ferreira J.F.S., Khan M.M.A., Naeem M. *Artemisia annua* – pharmacology and biotechnology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2014. 292 p.
9. Matvieieva N. Using of *Agrobacterium*-mediated transformation for the biotechnological improvement of Compositae plants. II. Synthesis of bioactive compounds in transgenic plants and "hairy" roots. *Biotechnologia Acta.* 2015. Vol. 8, No. 2. P. 26–35. doi: 10.15407/biotech8.02.026.
10. Kiani B.H., Ullah N., Haq I., Mirza B. Transgenic *Artemisia dubia* WALL showed altered phytochemistry and pharmacology. *Arabian Journal of Chem.* 2015. P. 1–11. doi: https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.04.020.
11. Liu C.Z., Guo C., Wang Y.C., Ouyang F. Effect of light irradiation on hairy root growth and artemisinin biosynthesis of *Artemisia annua* L. *Process Biochemistry.* 2002. Vol. 38, No. 4. P. 581–585. doi: https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00165-6
12. Havryliuk O., Matvieieva N., Tashyrev O., Yastremskaya L. Influence of cold stress on growth and flavonoids accumulation in *Artemisia tilesii* «hairy» root culture. *Agrobiodiversity.* 2017. P. 163–167. doi: http://dx.doi.org/10.15414/agrobiodiversity.2017.2585-8246.163-167.
13. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Plant Physiology.* 1962. Vol. 15, No. 3. P. 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
14. Blois M.S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.* 1958. Vol. 181. P. 1199–1200. doi: 10.1038/1811199a0.
15. Winkel-Shirley B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biol.* 2002. Vol. 5, No. 3. P. 218–223. doi: 10.1016/S1369-5266(02)00256-X.

16. Agati G., Biricolti S., Guidi L., Ferrini F., Fini A., Tattini M. The biosynthesis of flavonoids is enhanced similarly by UV radiation and root zone salinity in *L. vulgare* leaves. *J. Plant Physiol.* 2011. Vol. 168. P. 204–212. doi: 10.1016/j.jplph.2010.07.016.
17. Li J., Ou-Lee T.M., Raba R., Amundson R.G., Last R.L. *Arabidopsis* flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. *Plant Cell.* 1993. Vol. 5, No. 2. P. 171–179. doi: <https://doi.org/10.1105/tpc.5.2.171>.
18. Suresh J., Ahuja J., Paramakrishnan N., Sebastian M. Total phenolic and total flavonoids content of aerial parts of *Artemisia abrotanum* Linn. and *A. pallens* Wall. *Analytical Chemistry Letters.* 2012. Vol. 2, No. 3. P. 186–191. doi: <https://doi.org/10.1080/22297928.2000.10648268>.
19. Meredith G., Purnell J. Post-harvest Storage Stability of Artemisinin and Flavonoids in *Artemisia annua*. W.: Worcester Polytechnic Institute, 2014. P. 30. (Materials of Major Qualifying Project Report for the Degree of Bachelor of Science).
20. Stefanache C.P., Bugor O.C., Necula R., Danila D., Ciocarlan N., Ghendov V., Charlen C., Simonnet X. Phenolic content of *Artemisia annua* L. from natural habitats in Republic of Moldova. *J. Plant Develop.* 2016. Vol. 23. P. 61–69.
21. Kim Y.J., Lee J., Kim S. Cultivation characteristics and flavonoid contents of wormwood (*Artemisia montana* Pamp.). *Journal of Agricultural Chemistry and Environment.* 2013. Vol. 2, No. 4. P. 117–122. doi: <http://dx.doi.org/10.4236/jacen.2013.24017>.
22. Devare S.M., Lavate S.S., Shendker C.D., Deshpande N.R., Salvekar J.P. Quantification of Phenolics and Flavonoids by Spectrophotometer from *Artemisia pallens* roots. *Journal of Pharmacy Research.* 2014. Vol. 8, No. 3. P. 240–242.

**MATVIEIEVA N.A.<sup>1</sup>, HAVRYLIUK O.A.<sup>2</sup>, YASTREMSKA L.S.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Cell Biology and Genetic Engineering NAS of Ukraine, Ukraine, 03143, Kyiv, Akademika Zabolotnoho str., 148, e-mail: joyna56@gmail.com*

<sup>2</sup> *National aviation university, Ukraine, 03058, Kyiv, Kosmonavta Komarova, 1, e-mail: gav\_olesya@ukr.net*

#### **EFFECT OF SHORT-TERM COLD STRESS ON FLAVONOID ACCUMULATION IN ARTEMISIA VULGARIS L. AND ARTEMISIA ANNUA L. “HAIRY” ROOT CULTURES**

**Aim.** The aim of the work was to investigate the effect of short-term cold stress (+10°C) on the growth, flavonoid synthesis and antioxidant activity in *Artemisia vulgaris* L. and *A. annua* L. “hairy” root cultures. **Methods.** Transgenic roots were cultivated during the first 1, 2 and 5 days at +10°C on Murashige and Skoog basal medium with twice reduced macrosalt content. The total flavonoids content in Rutin equivalent was determined using alcohol extract reaction with aluminium chloride. Antioxidant activity was studied using the DPPH method. **Results.** Short-term cold stress resulted in a reduction of mass increment by 12–76 %. The total flavonoid content in «hairy» roots ranged from 32.0±3.13 to 187.0±21.04 mg RE/g dry weight. Decrease of temperature has led to decrease of the flavonoids content in No. 1, No. 2 *A. vulgaris* root lines and No. 5 *A. annua* line by 18–33 %. The reaction of No. 3 *A. vulgaris* and No. 4 *A. annua* root lines was expressed in stimulation flavonoid synthesis by 62 % and 56.5 %. Cultivation of «hairy» roots under short-term cold stress has led to decrease of the antioxidant activity in all roots lines by 4–40 %. **Conclusions.** Cold stress had negative effect the “hairy” roots growth, stimulated flavonoids accumulation only in two “hairy” root lines and reduced the level of antioxidant activity.

**Keywords:** «hairy» roots culture, *Artemisia* spp., cold stress, flavonoids, antioxidant activity.