

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ КЛЕТОК ОТСЕЧЕННЫХ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ I И II КОМПЛЕКСОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ

© О. О. Полыгалова,¹ Е. Н. Буфетов, А. А. Пономарева

Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН;

¹ электронный адрес: *bufetov-en@mail.ru*

Исследовали совместное действие ингибиторов I и II комплексов электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий — ротенона и малоната — на отсеченные корни проростков пшеницы в течение 6 ч инкубации. Одновременно с определением интенсивности поглощения кислорода и выхода ионов калия в инкубационную среду изучали изменения в ультраструктуре клеток. Малоновая кислота была добавлена через 1 ч после инкубации корней в растворе ротенона и вызывала подавление дыхания и больший выход K^+ в инкубационный раствор по сравнению с действием одного ротенона. Через 2 ч после совместного действия ингибиторов большое количество митохондрий приобретало тороидальную форму, тем самым увеличивая внешнюю поверхность. В последующие часы наблюдали стимуляцию потребления кислорода корнями и уменьшение содержания K^+ в среде инкубации. Митохондрии вновь приобретали округлую или овальную форму. При этом в клетках происходили компенсаторно-репарационные процессы. В клетках наблюдали контакты каналов эндоплазматического ретикулума с митохондриями, что, вероятно, связано с синтезом фермента, разлагающего малонат до ацетил-КоА, который в свою очередь может включаться как в цикл Кребса, так и в липогенез. Предполагается, что тороидальная форма митохондрий связана с активацией внешней НАД(Ф)Н-дегидрогеназы внутренней митохондриальной мембраны, поскольку в данных условиях, при ингибировании I и II комплексов ЭТЦ, работа остальных дегидрогеназ заблокирована. Таким образом, использование внешнего НАД(Ф)Н позволяет восстановить работу ЭТЦ митохондрий, что способствует протеканию репарационных процессов и позволяет клеткам адаптироваться к данному воздействию.

Ключевые слова: дыхание, ротенон, малонат, сукцинатдегидрогеназа, внешняя НАД(Ф)Н-дегидрогеназа, тороидальные митохондрии.

Принятые сокращения: МНРД — «матриксная», не чувствительная к ротенону НАД(Ф)Н-дегидрогеназа, СДГ — сукцинатдегидрогеназа, ЭТЦ — электрон-транспортная цепь.

Электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) митохондрий растительных клеток характеризуется наличием дополнительных переносчиков электронов, которые отсутствуют в клетках животных организмов. Благодаря этому в восстановлении митохондриального пула убихинона могут участвовать не только комплекс I и сукцинатдегидрогеназа (СДГ, комплекс II), но и два других компонента дыхательной цепи — внешняя НАД(Ф)Н-дегидрогеназа и «матриксная», не чувствительная к ротенону НАД(Ф)Н-дегидрогеназа (МНРД). Функционирование данных дегидрогеназ изучено преимущественно на изолированных митохондриях (Melo et al., 1996; Menz, Day, 1996; Moller, Rasmusson, 1998). Есть отдельные работы, выполненные и на целых клетках (Zhang et al., 2001). Однако исследований ультраструктурных особенностей функционирования перечисленных переносчиков электронов ЭТЦ митохондрий не проводилось.

В предыдущем исследовании (Буфетов и др., 2004б) нами было показано, что 20-минутная инкубация отсеченных корней пшеницы в растворе ротенона (ингибитора I комплекса митохондриальной ЭТЦ) приводит к появлению митохондрий тороидальной формы, после чего (через 10 мин) форма митохондрий возвращается к норме. Была высказана гипотеза о том, что в резуль-

тате данного морфологического изменения митохондрий происходит увеличение площади внешней поверхности органелл вследствие активации внешней НАД(Ф)Н-дегидрогеназы, использующей цитоплазматический НАД(Ф)Н.

Поскольку форма митохондрий возвращалась к норме, мы, основываясь на том, что при ингибировании I комплекса ЭТЦ (НАДН-дегидрогеназы) ротеноном конкурентно возрастает активность СДГ (Кондрашова и др., 1987), предположили, что данная нормализация связана в основном с активацией СДГ и, возможно, МНРД, включение которой не исключается при ингибировании комплекса I (Ravanel et al., 1984; Moore et al., 1991).

В настоящей работе для подтверждения того, что увеличение внешней поверхности митохондрий за счет образования тороидальной формы происходит в результате активации пути, использующего цитоплазматический НАД(Ф)Н, после блокирования I комплекса ЭТЦ ротеноном исследовали действие на клетки корней пшеницы ингибитора сукцинатдегидрогеназы малоната. Параллельно изучали динамику ультраструктурных изменений в клетках корней пшеницы при совместном действии ротенона и малоновой кислоты.

Материал и методика

Объектом исследования служили отсеченные корни 5-суточных проростков яровой пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Люба. Семена замачивали в водопроводной воде и выращивали на растворе 0.25 мМ CaCl₂ при комнатных температуре и освещении. Контролем служили отсеченные корни, инкубированные в растворе CaCl₂ (рН 5.6). В работе использовали растворы 10 мкМ ротенона (рН 5.6) и 15 мкМ малоната (рН 5.7), приготовленные на контрольном растворе CaCl₂. Интенсивность потребления кислорода корнями определяли манометрическим методом в аппарате Варбурга. Навески отсеченных корней (150 мг) помещали в сосудики с соответствующими растворами и через 10—15 мин термостатирования измеряли дыхание в течение 6 ч. Показания снимали каждые 60 мин, после чего корни использовали для электронно-микроскопических исследований. В инкубационном растворе определяли содержание ионов калия с помощью пламенного фотометра ПФМ У 4.2 (Россия). Измерения рН внешней среды проводили на рН-метре ОР-211/1 (Radelkis, Венгрия). Для электронной микроскопии брали кусочки корня (1—2 мм) из зоны растяжения, фиксировали в 2.5%-ном растворе глутаральдегида на 0.1 М Na-фосфатном буфере (рН 7.2) и постфиксировали в 1%-ном растворе OsO₄ на Na-фосфатном буфере с добавлением сахарозы (25 мг/мл). После дегидратации образцы помещали в эпоксидную смолу Эпон-812 (Serva, ФРГ). Срезы получали на ультрамикротоме LKB-III (Швеция), контрастировали насыщенным водным раствором уранил-ацетата при 60 °С и цитратом свинца. Препараты просматривали на электронном микроскопе Hitachi-125 (Япония). Анализировали клетки центрального цилиндра на поперечном срезе корня.

Все анализы проводили не менее чем в 3-кратной повторности. Экспериментальный материал обрабатывали статистически.

Результаты и обсуждение

Через 1 ч действия ротенона происходило подавление интенсивности потребления кислорода клетками корней (рис. 1), выход ионов калия в инкубационный раствор (рис. 2) и увеличение рН внешней среды (см. таблицу). Данные изменения, вероятно, связаны как с нарушением проницаемости плазмалеммы, так и с ингибированием I сегмента ЭТЦ митохондрий. В дальнейшем наблюдали усиление дыхания: через 2 ч оно достигало контрольного уровня, а начиная с 4-го ч превышало его

приблизительно на 50 % (рис. 1). Также к этому времени (3—4 ч) снижалось содержание K⁺ в инкубационном растворе, достигающее к концу опыта минимальных значений (рис. 2). Одновременно с этим происходило подкисление внешней среды (см. таблицу), что свидетельствует о работе H⁺-АТФаз плазмалеммы.

Значительных изменений в ультраструктуре клеток корней как в контрольном, так и в опытных вариантах на протяжении всех 6 ч не наблюдали. Митохондрии имели ортодоксальный вид (овальная форма, средней плотности матрикс, многочисленные слабо выраженные кристы) (рис. 3, б, в, д, е; 4, а, д, е), как и в клетках корней нативных растений (рис. 3, а).

Таким образом, представленные данные дают основания предполагать, что клетки корней способны адаптироваться к воздействию ротенона благодаря включению альтернативных путей (минуя I комплекс ЭТЦ митохондрий), к которым относятся пути, включающие в себя СДГ и внешнюю НАД(Ф)Н-дегидрогеназу. При этом нельзя исключать и вероятность детоксикации ротенона. В клетках растений, как и в клетках других организмов, имеется система цитохрома Р-450, которая принимает участие в окислении как ксенобиотиков (Арчаков, 1982), так и субстратов эндогенного происхождения (Гордон, 1976; Sandermann, 1992).

Добавление малоновой кислоты через 1 ч в среду инкубации корней, содержащую ротенон, вновь приводило к снижению интенсивности дыхания (рис. 1). Однако содержание ионов калия в инкубационном растворе при совместном действии ингибиторов было не намного выше, чем при воздействии одного ротенона (рис. 2). При этом наблюдали снижение рН внешней среды в течение 2 ч (см. таблицу). Можно предположить, что дополнительное воздействие на плазмалемму активизирует H⁺-АТФазы и тем самым выход K⁺ компенсируется поглощением H⁺.

Добавление малоната приводило к изменению ультраструктуры митохондрий по сравнению с действием одного ротенона (рис. 3, в). Через 1 ч наряду с митохондриями ортодоксального типа наблюдали слегка просветленные митохондрии с уменьшенным количеством крист и чаще всего неправильной формы (рис. 3, з). Такие изменения в ультраструктуре митохондрий, по-видимому, связаны с частичным ингибированием СДГ, которая, как известно, является ферментом цикла трикарбоновых кислот.

Через 2 ч большая часть митохондрий приобретала тороидальную форму (рис. 3, ж). Поскольку при совместном действии ротенона и малоновой кислоты происходит ингибирование I и II комплексов ЭТЦ, а также цикла Кребса, внешняя НАД(Ф)Н-дегидрогеназа становится

Изменение рН среды инкубации клеток корней пшеницы при действии ротенона и при совместном действии ротенона с малонатом, добавленным к ротенону через 1 ч

Вариант опыта	Значение рН через разное время, ч						
	0	1	2	3	4	5	6
Контроль	5.60	5.01 ± 0.03	5.40 ± 0.06	5.51 ± 0.11	5.61 ± 0.05	5.41 ± 0.03	5.41 ± 0.02
Ротенон	5.60	6.01 ± 0.12	6.10 ± 0.03	5.81 ± 0.08	5.70 ± 0.04	5.21 ± 0.02	5.02 ± 0.06
Ротенон + малонат	—	5.7 ^а	5.61 ± 0.08	5.62 ± 0.04	5.71 ± 0.07	5.70 ± 0.03	5.90 ± 0.05

^а Значение рН раствора малоната, который добавляли к ротенону.

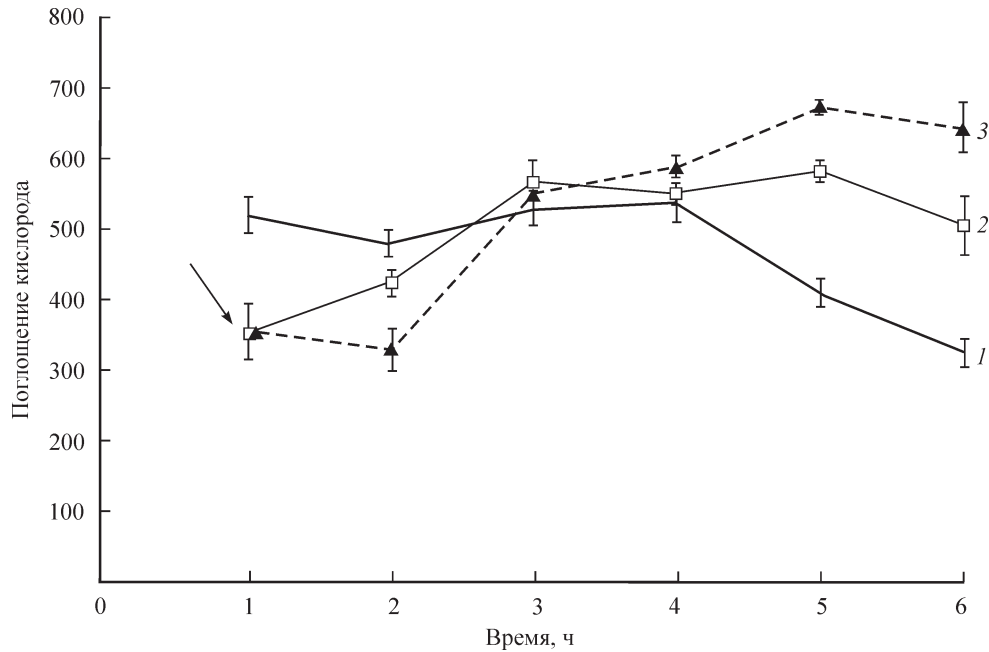


Рис. 1. Интенсивность потребления кислорода клетками корней пшеницы при действии ротенона (10 мкМ) и ротенона совместно с малонатом (15 мМ), добавленным к ротенону через 1 ч инкубации.

1 — контроль, 2 — ротенон, 3 — ротенон и малонат, добавленный на 1 ч позже к ротенону (стрелка); поглощение O_2 выражено в мкл на 1 г сырой массы.

практически единственным участком дыхательной цепи, способным восстанавливать пул митохондриального убихинона, так как для функционирования МНРД необходим НАД(Ф)Н матрикса органелл, который образуется в процессе функционирования цикла трикарбоновых кислот. В связи с этим можно с большей уверенностью утверждать, что тороидальная форма митохондрий, способствующая увеличению внешней поверхности, свидетельствует об активации внешней НАД(Ф)Н-дегидрогеназы.

Полученные результаты согласуются с данными Шугаева и Выскребенцевой (1994), согласно которым малоновая кислота в присутствии сукцината способна «переключат» изолированные митохондрии корнеплода сахарной свеклы на использование внешнего НАД(Ф)Н.

Через 2 ч совместного действия двух ингибиторов наблюдали контакты митохондрий с пластидами (рис. 3, з). Вероятно, это связано с обменом метаболитами между двумя органеллами с привлечением челночных систем, таких как оксалоацетат—малат и др., которыми обладают митохондрии и пластиды (Heldt, Flügge, 1987).

Известна еще одна дегидрогеназа, ответственная за окисление внешнего НАДН, так называемая НАДН-антимидин А-нечувствительная, расположенная на внешней мембране митохондрий животных и растений, в состав которой входят флавопротеин и цитохром b_{555} (Douce et al., 1973). Однако исследователи обычно оставляют без внимания данный путь окисления НАДН, поскольку для его функционирования необходимо присутствие цитохрома c в межмембранном пространстве. Учитывая то обстоятельство, что эта дегидрогеназа поставляет электроны на IV комплекс, минуя два пункта сопряжения, ее вклад в синтез АТФ минимален.

Включение внешнего альтернативного пути, вероятно, и приводит к восстановлению интенсивности потреб-

ления кислорода клетками корня, а затем и к стимуляции дыхания (рис. 1). При этом существенно уменьшалось содержание ионов калия в инкубационном растворе (рис. 2).

Начиная с 3-го ч инкубации и далее в клетках происходили компенсаторно-репарационные процессы, о чем можно судить по ультраструктурным изменениям в них. Встречались контакты митохондрий с каналами шерохо-

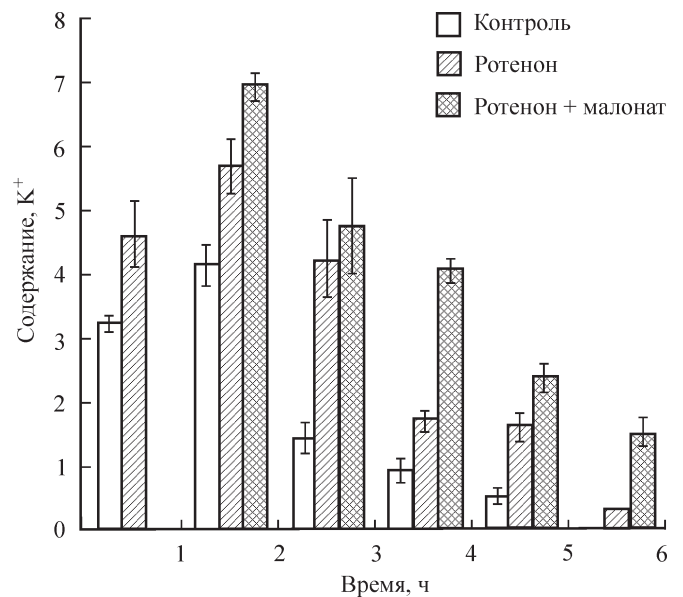


Рис. 2. Влияние ротенона (10 мкМ) и ротенона совместно с малонатом (15 мМ) на содержание K^+ в среде инкубации клеток отсеченных корней пшеницы.

Содержание K^+ выражено в мэкв на 1 г сырой массы. Малонат добавляли через 1 ч после ротенона.

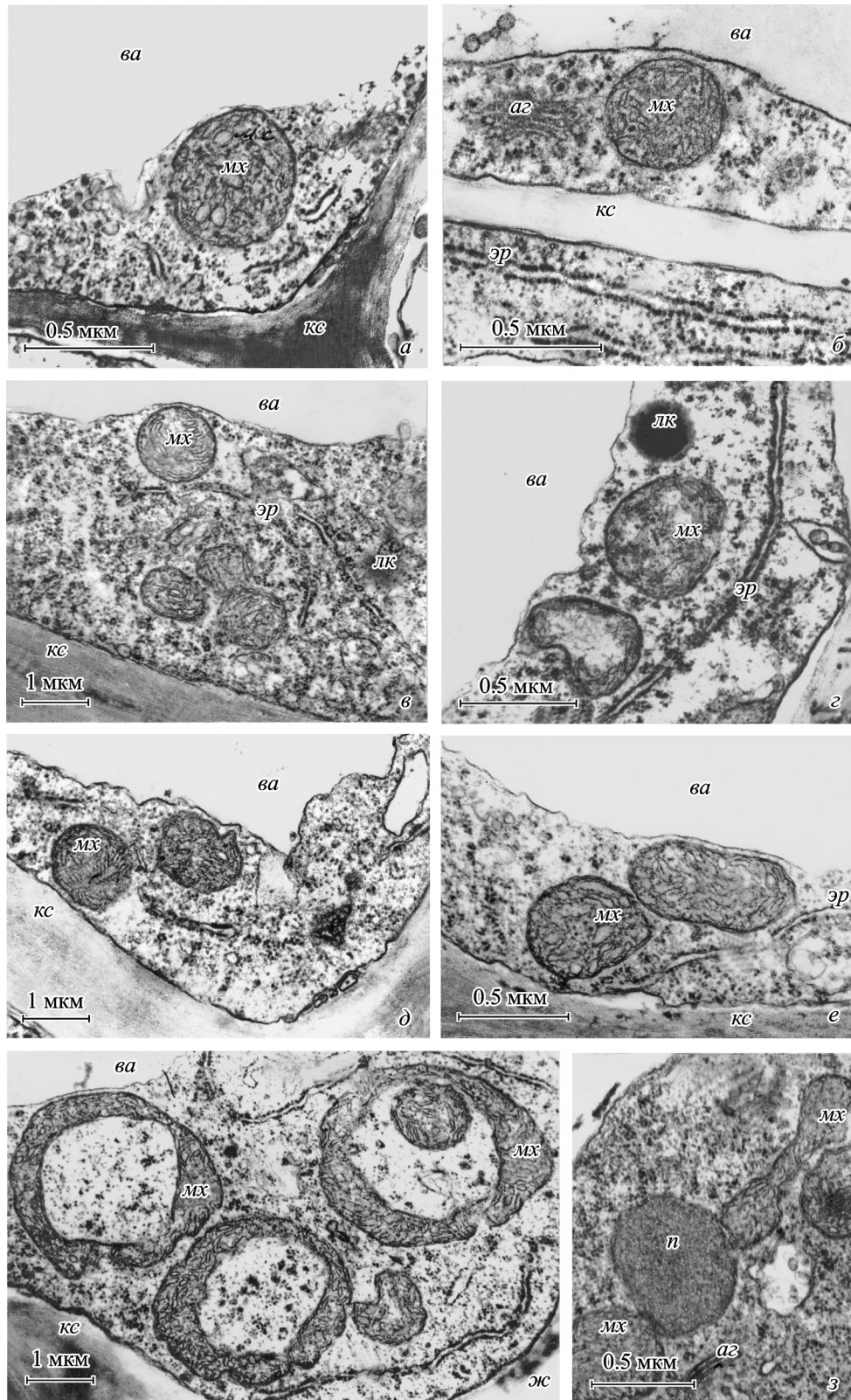


Рис. 3. Изменения ультраструктуры клеток корней пшеницы при действии ротенона (10 мкМ, 2 ч) и при совместном действии ротенона с малонатом (15 мМ).

а — клетка нативных корней пшеницы, митохондрии ортодоксального типа (овальная форма, средняя плотность матрикса, слабовыраженные кристы); *б* — контроль (2 ч), митохондрии не отличаются от органелл в исходных клетках; *в* — действие ротенона (2 ч), ортодоксальные митохондрии; *г* — совместное действие ротенона и малоната через 1 ч после добавления малоната, слегка просветленные митохондрии неправильной формы с уменьшенным количеством крист; *д* — контроль (3 ч), митохондрии не отличаются от органелл исходных клеток; *е* — действие ротенона (3 ч), ортодоксальные митохондрии; *ж* — совместное действие ротенона и малоната через 2 ч после добавления малоната, появление тороидальных митохондрий; *з* — совместное действие ротенона и малоната через 2 ч после добавления малоната, контакт митохондрий с пластидой. *аг* — аппарат Гольджи, *ва* — вакуоль, *кс* — клеточная стенка, *лк* — липидная капля, *мх* — митохондрия, *п* — пластида, *эр* — эндоплазматический ретикулум.

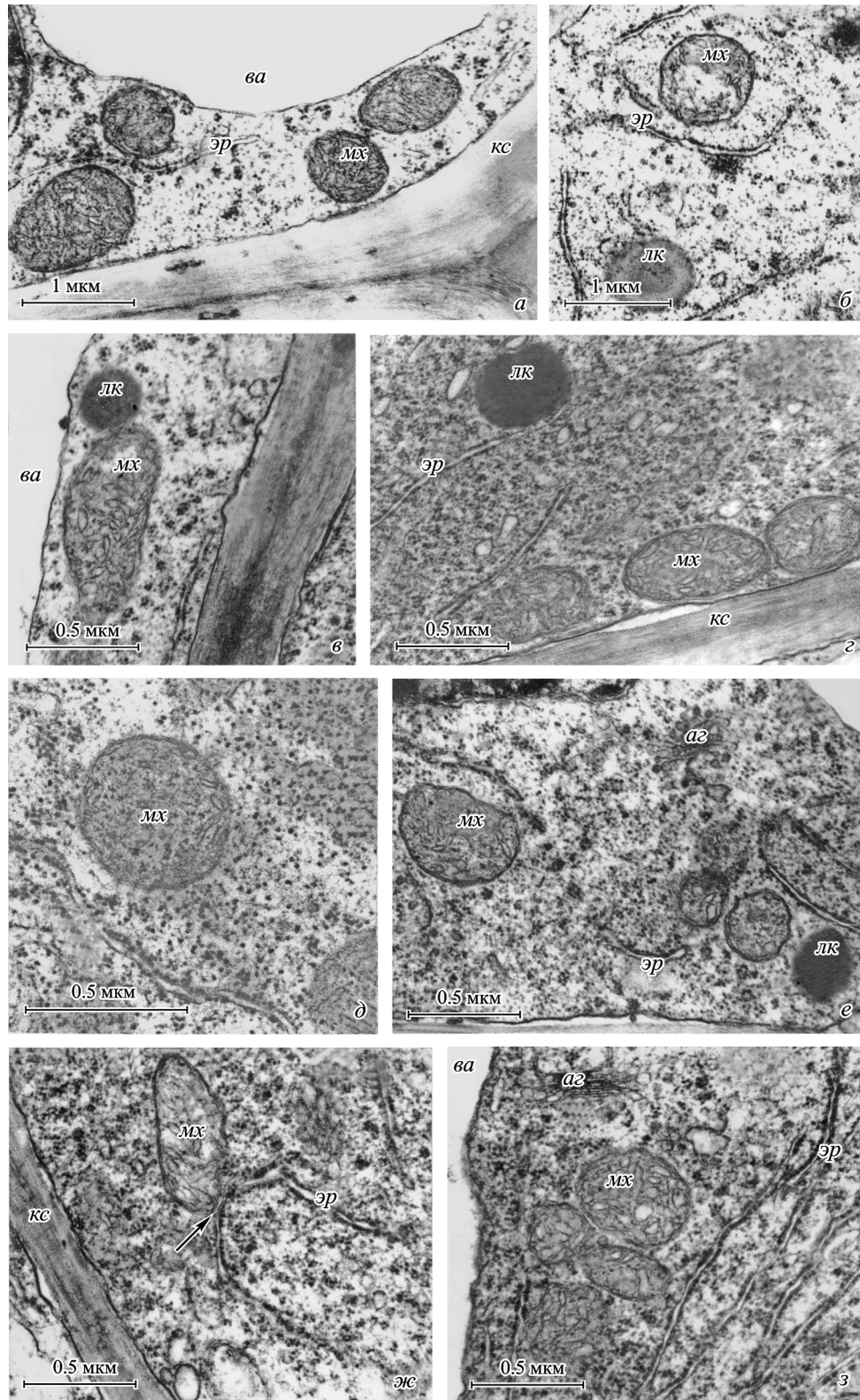


Рис. 4. Изменения ультраструктуры клеток корней пшеницы при совместном действии ротенона (10 мкМ) и малоната (15 мМ) в течение 5—6 ч инкубации.

a — контроль, CaCl_2 (5 ч), митохондрии не отличаются от органелл нативных клеток; *б* — совместное действие ротенона и малоната через 4 ч после добавления малоната, слегка просветленная митохондрия с уменьшенным количеством крист; *в* — совместное действие ротенона и малоната через 4 ч после добавления малоната и митохондрия, контактирующая с липидной каплей; *г* — совместное действие ротенона и малоната через 4 ч после добавления малоната, митохондрии, расположенные вдоль плазмалеммы, и липидная капля, связанная с каналом эндоплазматического ретикулума; *д* — контроль, CaCl_2 (6 ч), митохондрии не отличаются от органелл в нативных клетках; *е* — действие ротенона (6 ч), ортодоксальные митохондрии; *ж* — совместное действие ротенона и малоната через 5 ч после добавления малоната, контакт канала эндоплазматического ретикулума с митохондрией (стрелка); *з* — совместное действие ротенона и малоната через 5 ч после добавления малоната, ортодоксальные митохондрии, не отличающиеся от органелл в клетках контрольного варианта. Обозначения те же, что и на рис. 3.

ватого эндоплазматического ретикулума (рис. 4, ж), наблюдаемые нами и при действии одного малоната (Буфетов и др., 2004а). Такая близость цитоплазматических рибосом, находящихся на мембранах эндоплазматического ретикулума, к митохондриям, по-видимому, необходима для более эффективного транспорта синтезированных на них белков (Озернюк, 1978). Таким белком может быть фермент, способный метаболизировать малоновую кислоту (Young, Shannon, 1959). При этом малонат с затратой одной молекулы АТФ превращается в малонил-КоА, а затем разлагается до ацетил-КоА и CO_2 , которые в дальнейшем могут включаться в цикл трикарбоновых кислот, тем самым усиливая интенсивность дыхания (рис. 1).

Продукты разложения малоната также, по-видимому, используются в процессе липогенеза, так как малонил-КоА, как известно, является необходимым компонентом этого процесса (Macey, Stumpf, 1968). Подтверждением этому могут быть наблюдаемые в цитоплазме липидные капли, контактирующие с каналами эндоплазматического ретикулума (рис. 4, б, з), что свидетельствует о синтезе их *de novo* (Wanner et al., 1981; Murphy, Vance, 1999).

Кроме того, нередко обнаруживались контакты липидных капель с митохондриями (рис. 4, в), что, вероятнее всего, связано с окислением липидов в митохондриях. Следует особо отметить то обстоятельство, что при β -окислении молекулы жирной кислоты образуется большее количество АТФ, чем при окислении молекулы глюкозы (Албертс и др., 1987).

В некоторых клетках митохондрии располагались вблизи плазмалеммы (рис. 4, з), что, по-видимому, ускоряет поставку АТФ для АТФазных систем цитоплазматической мембраны, за счет работы которых происходит восстановление нарушенного гомеостаза. При этом через 6 ч инкубации корней с ингибиторами митохондрий в клетках имели ортодоксальный вид (рис. 4, е—з).

Все вышеперечисленные процессы являются энергозависимыми, а поскольку основное количество АТФ образуется в митохондриях, с этим, по-видимому, и связана стимуляция дыхания к окончанию эксперимента (рис. 1).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что увеличение поверхности митохондрий за счет тороидальной формы является следствием активации функционирования внешней НАД(Ф)Н-дегидрогеназы внутренней мембраны митохондрий. Необходимо отметить, что этот внешний путь может функционировать и как дополнительный, в тех случаях когда ЭТЦ митохондрий не нарушена, а клетка нуждается в большом количестве АТФ, особенно при адаптации растения к внешним воздействиям. Так, в условиях аноксии в клетках меристематической ткани корня, листа и колеоптиля кукурузы наблюдали появление митохондрий тороидальной формы, что авторы связывают с процессами адаптации (Генерозова и др., 1984). При ингибировании I и II комплексов ЭТЦ митохондрий использование цитоплазматического НАД(Ф)Н способствует частичному восстановлению окислительного фосфорилирования, тем самым давая возможность клеткам начать компенсаторно-репарационные процессы. Стимуляция дыхания, уменьшение содержания K^+ в инкубационной среде и отсутствие в клетках каких-либо деструктивных изменений дают основание предполагать, что через 6 ч инкубации начинается адаптация клеток к действию ротенона и малоната.

Список литературы

- Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рафф М., Робертс К., Уотсон Дж. Д. 1987. Молекулярная биология клетки. М.: Мир. 296 с.
- Арчаков А. И. 1982. Оксигеназы биологических мембран. М.: Наука. 56 с.
- Буфетов Е. Н., Польшгалова О. О., Пономарева А. А. 2004а. Структурно-функциональные изменения клеток корней пшеницы *Triticum aestivum* L. при воздействии малоната. Цитология. 46 (11) : 979—984.
- Буфетов Е. Н., Польшгалова О. О., Пономарева А. А. 2004б. Ультраструктурные особенности митохондрий в процессе адаптации клеток к действию ротенона. Цитология. 46 (11) : 985—992.
- Генерозова И. П., Снхчан А. Г., Варпанетян Б. Б. 1984. Динамика изменения ультраструктуры митохондрий проростков кукурузы в условиях аноксии. Физиол. раст. 31 (4) : 683—691.
- Гордон Л. Х. 1976. Дыхание и водно-солевой обмен растительных тканей. М.: Наука. 119 с.
- Кондрашова М. Н., Григоренко Е. В., Бабский А. М., Хазанов В. А. 1987. Гомеостазирование физиологических функций на уровне митохондрий. В кн.: Молекулярные механизмы клеточного гомеостаза. Новосибирск: Наука. 40—66.
- Озернюк Н. Д. 1978. Рост и воспроизведение митохондрий. М.: Наука. 263 с.
- Шугаев А. Г., Выскребенцева Э. И. 1994. Конкурентные отношения при совместном окислении экзогенного НАД(Ф)Н₂ и интермедиатов цикла трикарбоновых кислот в митохондриях корнеплода сахарной свеклы. Физиол. раст. 41 (1) : 49—55.
- Douce R., Mannella C. A., Bonner W. D. 1973. The external NADN dehydrogenases of intact plant mitochondria. Biochim. biophys. acta. 292 : 105—116.
- Heldt H. W., Flügge U. I. 1987. Subcellular transport of metabolites in plant cells. Biochem. Plants. 12 : 49—85.
- Macey M. J. K., Stumpf P. K. 1968. Fat metabolism in higher plants XXXVI: Long chain fatty acid synthesis in germinating peas. Plant Physiol. 43 : 1637—1647.
- Melo A. M. P., Roberts T. H., Moller I. M. 1996. Evidence for the presence of two rotenone-insensitive NAD(P)H dehydrogenases on the inner surface of the inner membrane of potato tuber mitochondria. Biochim. biophys. acta. 1276 : 133—139.
- Menz R. I., Day D. A. 1996. Purification and characterization of a 43-kDa rotenone-insensitive NADH dehydrogenase from plant mitochondria. J. Biol. Chem. 271 : 23 117—23 120.
- Moller M., Rasmusson A. G. 1998. The role of NADH in the mitochondrial matrix. Trends in Plant Sci. 3 : 21—27.
- Moore A. L., Dry I. B., Wiskich J. T. 1991. Regulation of electron transport in plant mitochondria under state 4 conditions. Plant Physiol. 95 : 34—40.
- Murphy D. J., Vance J. 1999. Mechanisms of lipid-body formation. Trends in Biochem. Sci. 24 : 109—115.
- Ravanel P., Tissut M., Douce R. 1984. Effects of rotenoids on isolated plant mitochondria. Plant Physiol. 75 : 414—420.
- Sandermann H. J. 1992. Plant metabolism of xenobiotics. Trends in Biochem. Sci. 17 : 82—84.
- Wanner G., Formanek H., Theimer R. R. 1981. The ontogeny of lipid bodies (spherosomes) in plant cells. Planta. 151 : 109—123.
- Young R. H., Shannon L. M. 1959. Malonate as a participant in organic acid metabolism in bush bean leaves. Plant Physiol. 34 : 149—152.
- Zhang Q., Soole K. L., Wiskich J. T. 2001. Regulation of respiration in rotenone-treated tobacco cell suspension cultures. Planta. 212 : 765—773.

Поступила 28 VI 2006

THE PECULIARITIES OF WHEAT ROOT CELLS FUNCTIONING UNDER INHIBITION OF I
AND II COMPLEXES OF MITOCHONDRIAL RESPIRATORY CHAIN*O. O. Polygalova,¹ E. N. Bufetov, A. A. Ponomareva*

Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan' Scientific Centre of RAS;

¹ e-mail: bufetov-en@mail.ru

A joint effect of rotenone and malonate on the intensity of respiration, output of K^+ and ultrastructure of wheat root cells treated for 6 h was studied. The addition of malonate to rotenone containing solution, in which wheat roots had been incubated for an hour, caused further decrease in respiration intensity and K^+ output into external medium. Many mitochondria acquired torus shape in 2h after malonate addition. The increase in respiratory intensity and re-entry of K^+ from the incubation medium into the cells were observed during following hours of incubation. We assume that reparation and adaptation processes took place in this case. The observed contacts of endoplasmic reticulum lumens with mitochondria are indicative of possible synthesis of an enzyme able to metabolize malonate to acetyl-CoA and CO_2 . We propose that torus shape of mitochondria is due to the increase in their outer surfaces, that, in turn, is a result of activation of external NAD(P)H-dehydrogenase. These findings may be evidence of possible adaptation of the root cells to the joint effect of the inhibitors.

Key words: respiration, rotenone, malonate, succinate dehydrogenase, external NAD(P)H-dehydrogenase, torus shape mitochondria.
