

亚硒酸钠对刺参免疫反应中体腔液酶活力的影响

刘洪展^{1,2}, 郑风荣^{3*}, 孙修勤³, 唐学玺¹

(1. 中国海洋大学海洋生命学院, 山东 青岛 266003;

2. 山东大学威海分校海洋学院, 山东 威海 264209;

3. 国家海洋局第一海洋研究所, 山东 青岛 266061)

摘要: 为了合理评价硒对水产养殖刺参的作用, 实验检测和观察了室内模拟亚硒酸钠处理及细菌感染条件下刺参体腔液免疫酶的变化、组织病理变化和相对保护率。结果表明, 随着亚硒酸钠处理强度的增加, 刺参体腔液中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GP_x)、溶菌酶(LYZ)、酚氧化酶(PO)及碱性磷酸酶(ALP)活性升高; 在同时感染病菌的情况下, SOD、GP_x及LYZ活性表现为先升高后下降的趋势, PO和ALP活性则持续上升, 但随亚硒酸钠浓度升高, ALP活性增加的幅度减少, 而较高亚硒酸钠浓度时累计发病率上升, 相对保护率下降。研究结果表明, 适宜浓度的亚硒酸钠可增强刺参对细菌感染的免疫力, 而细菌感染可以加剧亚硒酸钠胁迫对刺参造成的免疫功能损伤, 所以适度利用硒可减轻刺参养殖病害的发生。

关键词: 刺参; 亚硒酸钠; 体腔液酶; 免疫反应

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

硒是机体不可缺少的微量元素, 可以协调动物的营养生理功能, 提高动物生长性能, 增强免疫力^[1]。在适宜的浓度范围内, 硒具有抗氧化、维持细胞膜稳定性、抗感染、维持正常免疫功能等广泛作用^[2], 硒可以影响水生动物的免疫功能, 缺硒会使水生动物疾病抵抗力降低, 免疫活性细胞功能受损, 并可使机体免疫后产生的特异性抗体水平下降, 从而使水生动物免疫能力降低, 因此, 适度补硒则可提高水生动物的免疫功能^[3]。后来发现微量元素硒也具有一定的毒性, 硒摄入量过多会对机体造成伤害。研究报告, 硒在较低浓度时主要有消除自由基的倾向, 表现有益的生理效应, 而在较高浓度下, 则以产生自由基(活性氧)为主, 导致毒性作用^[4-5]。因此, 硒作为微量元素在生命科学研究中具有重要地位, 尤其是如今, 营养素对动物免疫功能的影响越来越受到人们关注。目前, 硒在水产养殖上的应用国内才刚刚起步, 国外学者研究发现硒在水产动物体内的功能与陆生动物大体一样, 可以

促进水产动物生长, 提高机体免疫力, 降低死亡率, 在水产养殖上的应用具有广阔的发展前景。Chiu等^[6]研究表明, 在虾饲料中添加浓度为0.5 mg的硒酸钠或1 mg 硒-L-蛋氨酸饲喂罗氏沼虾, 可使其增加免疫力和抗病力。Minganti等^[7]研究了金头鲷(*Sparus aurata*)肌肉组织中的几种微量元素(汞, 硒, 镉, 铅, 砷, 铜, 铬, 铁, 锰, 钼, 钒和锌)的浓度对消费者健康的影响。Dorr等^[8]则研究了富硒饮食对成年克氏螯虾(*Procambarus clarkii*)的抗氧化反应的影响, 认为其可提高抗氧化功能。海参属于海洋无脊椎动物中较低等的水产养殖品种, 对水体环境的要求比较严格, 关于海水养殖中硒的利用对海参免疫反应的影响, 国内外均未见报道。本文选用我国的一种主要人工养殖品种刺参(*Apostichopus japonicus*)作为试验材料, 在水体中加入亚硒酸钠后测定刺参体腔液中主要免疫相关酶活力的变化, 以期得到养殖水体中硒的用量对刺参体液免疫反应影响的规律, 从而为刺参养殖业中

收稿日期:2011-03-20 修回日期:2011-11-08

资助项目:“十一五”国家科技支撑计划(2006BAD09A01);国家海洋局青年海洋科学基金重点资助项目(2009119);海洋公益性行业科研专项经费项目(200905020)

通讯作者:郑风荣, E-mail: zhengfr@fio.org.cn

硒源非特异性免疫促进剂的研发及刺参病害预防提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

刺参购自青岛李村海产品批发市场,为当天捕捞大小基本一致的活体刺参,每头体质量约为 62 g,伸展的体长约为 15 cm。试验用亚硒酸钠属 Sigma 公司产品,感染病菌由本实验室提供,其他试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

刺参在试验室中用自然沉降过滤的海水暂养 3 d,暂养期间停止喂食,持续充氧,每天不完全换水 1 次以清除水体中的排泄物,自然水温保持在 19~21 °C。挑选完好无损、健康活跃、规格基本一致的刺参用于试验。

随机将试验刺参放在持续充气的浓度为 4 $\mu\text{mol/L}$ (低浓度)、10 $\mu\text{mol/L}$ (中浓度)、16 $\mu\text{mol/L}$ (高浓度)亚硒酸钠灭菌海水中,每个处理在 4 L 水体中放养 12 头刺参,设 2 个重复。对照组为 3 种浓度的亚硒酸钠处理再注射等剂量的灭菌海水,每个浓度处理设 2 个重复。试验组为 3 种浓度的亚硒酸钠处理后再进行注射感染病菌处理,每个浓度处理设 2 个重复;注射细菌浓度为 $5 \times 10^8/\text{mL}$,每头剂量为 0.1 mL。处理后观察刺参的状态,包括触手伸缩、疣足变化、体壁的伸缩等的活力情况,并在处理后 5 d 取不同浓度处理的对照组刺参体壁肌肉组织、触手、疣足、肠组织, PBS 冲洗后、放入 Davidson 固定液中固定,做石蜡切片,显微镜观察注射处的炎症、病理变化。组

织切片用光学显微镜 (Nikon ECLIPSE TE2000-U) 观察、拍照。在处理 0、3、5 d 后用无菌注射器抽取对照组和试验组的刺参体腔液,其中每头刺参收集体腔液 0.2 mL,将收集的刺参体腔液混合后立即放入 -80 °C 冰箱中备用。

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的测定参考常雅宁等^[9]的连苯三酚自氧化法;谷胱甘肽过氧化酶 (GPx) 活性的测定参考邓修惠等^[10]改良的 DTNB 比色法;酚氧化酶 (PO) 活性的测定参考肖婷等^[11]的紫外分光光度计法;碱性磷酸酶 (ALP) 活性的测定参考磷酸苯二钠为底物的金氏法^[12];溶菌酶 (LYZ) 活性的测定参考 Hultmark 等^[13]的溶壁微球菌粉法。

2 结果

2.1 亚硒酸钠对刺参体腔液 SOD 活性的影响

在未经病菌感染的处理中,随着亚硒酸钠处理时间的延长,高浓度处理组体腔液 SOD 活性表现为逐渐升高的趋势,第 5 天时 SOD 活性分别比处理前增加了 35.4%,低浓度和中浓度处理组的 SOD 活性表现为先升高后下降的趋势,第 5 天时两组的 SOD 活性分别比处理前减少了 38.2% 和 11.1%;在病菌感染的处理中,随着亚硒酸钠处理时间的延长,低浓度处理组 SOD 活性下降,第 3 天和 5 天时 SOD 活性分别比处理前减少了 18.5% 和 3.1%,中浓度和高浓度处理组 SOD 活性升高,第 5 天时两组的 SOD 活性分别比处理前增加了 76.7% 和 56.3%。说明亚硒酸钠对体腔液 SOD 活性的影响与刺参本身的状态和胁迫处理的时间有一定的关系 (图 1)。

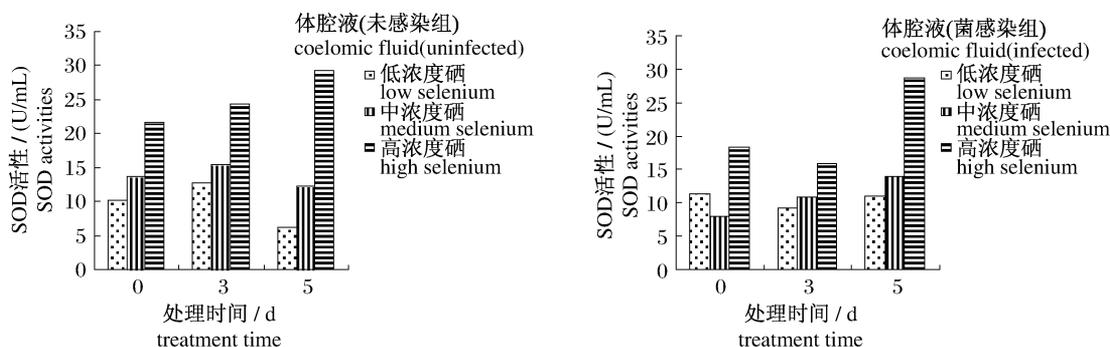


图 1 亚硒酸钠对刺参体腔液 SOD 活性的影响

Fig. 1 Effect of sodium selenite on the SOD activities of holothurian coelomic fluid

2.2 亚硒酸钠对刺参体腔液 GPx 活性的影响

在未经病菌感染的处理中,随着亚硒酸钠处

理时间的延长,高浓度处理组体腔液 GPx 活性表现为逐渐升高的趋势,第 5 天时 GPx 活性分别比

处理前增加了77.2%,低浓度和中浓度处理组的GPx活性下降,第5天时两组的GPx活性分别比处理前减少了67.9%和14.3%;在病菌感染的处理中,随着亚硒酸钠处理时间的延长,体腔液GPx活性表现为先下降后升高的趋势,第5天时低浓

度和中浓度处理组的GPx活性分别比处理前增加了37.1%和71.1%,而高浓度处理组的GPx活性比处理前减少26.7%。说明刺参体腔液GPx活性的增加不仅受亚硒酸钠的影响,还与刺参对病原的应激反应有关(图2)。

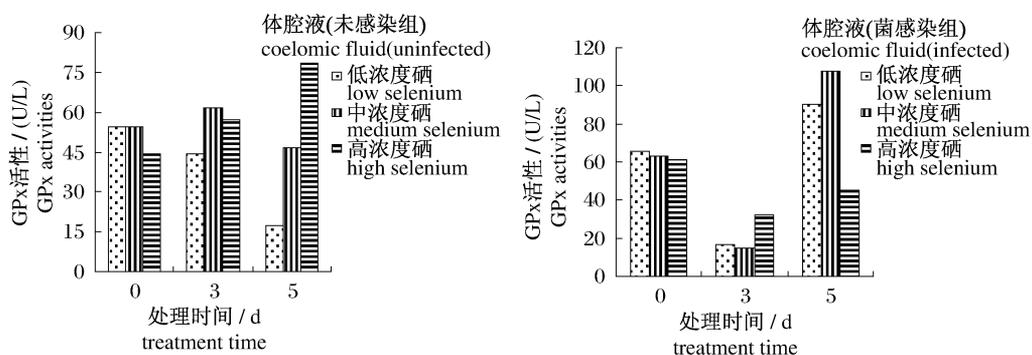


图2 亚硒酸钠对刺参体腔液GPx活性的影响

Fig. 2 Effect of sodium selenite on the GPx activities of holothurian coelomic fluid

2.3 亚硒酸钠对刺参体腔液PO活性的影响

在未经病菌感染的处理中,随着亚硒酸钠处理时间的延长,体腔液PO活性表现为稍微下降然后急剧升高的趋势,第5天时低、中和高浓度处理组PO活性分别比处理前增加了1.05倍、1.06倍和1.93倍;在病菌感染的处理中,随着亚硒酸

钠处理时间的延长,低浓度和中浓度处理组体腔液PO活性第3天下降,第5天明显升高,两组的PO活性分别比处理前增加62.3%和67.8%,高浓度处理组PO活性逐渐上升,第5天时比处理前增加了2.0倍。说明刺参体腔液PO代谢系统受到亚硒酸钠和病原协同作用的影响(图3)。

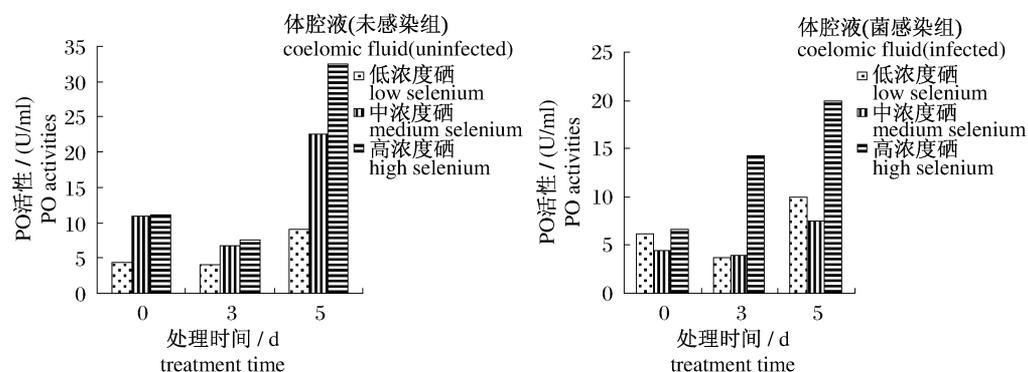


图3 亚硒酸钠对刺参体腔液PO活性的影响

Fig. 3 Effect of sodium selenite on the PO activities of holothurian coelomic fluid

2.4 亚硒酸钠对刺参体腔液ALP活性的影响

在未经病菌感染的处理中,随着亚硒酸钠处理时间的延长,体腔液ALP活性明显上升,第5天时低、中和高浓度处理组ALP活性分别比处理前增加了9.82倍、3.84倍和8.32倍;在病菌感染的处理中,随着亚硒酸钠处理时间的延长,低浓

度处理组ALP活性表现为逐渐上升的趋势,中浓度和高浓度处理组ALP活性表现为先急剧上升后缓慢下降的趋势,第5天时低、中和高浓度处理组ALP活性分别比处理前增加了1.23倍、7.86倍和2.12倍。说明病菌和亚硒酸钠对刺参体腔液ALP活性可产生相互抑制的作用(图4)。

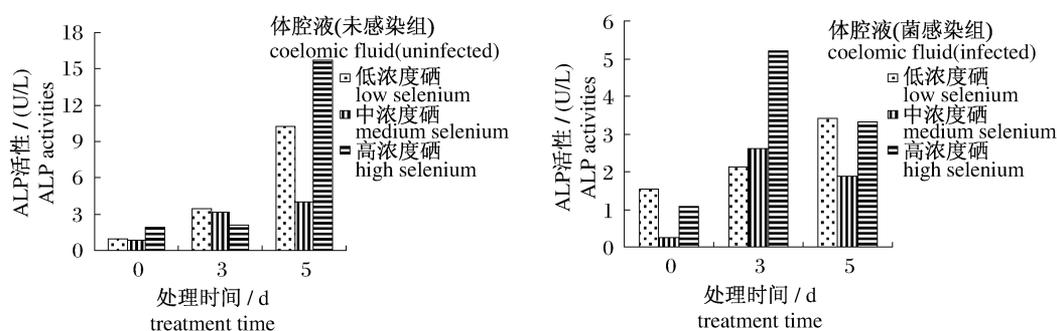


图4 亚硒酸钠对刺参体腔液 ALP 活性的影响

Fig. 4 Effect of sodium selenite on the ALP activities of holothurian coelomic fluid

2.5 亚硒酸钠对刺参体腔液 LYZ 活性的影响

在未经病菌感染的处理中,随着亚硒酸钠处理时间的延长,体腔液 LYZ 活性表现为先上升后下降的趋势,低、中和高浓度处理组的 LYZ 活性第 3 天时分别比处理前增加了 75.9%、1.31 倍和 1.63 倍,第 5 天时分别比处理前增加了 89.2%、0.96% 和 11.2%;在病菌感染的处理中,随着亚

硒酸钠处理时间的延长,低浓度处理组 LYZ 活性逐渐降低,中浓度和高浓度处理组 LYZ 活性先急剧下降后缓慢上升,第 5 天时低、中和高浓度处理组的 LYZ 活性分别比处理前减少了 76.9%、17.9% 和 50.4%。说明病原菌诱导 LYZ 活性变化与亚硒酸钠胁迫损伤 LYZ 活性之间也存在相互抑制的作用(图 5)。

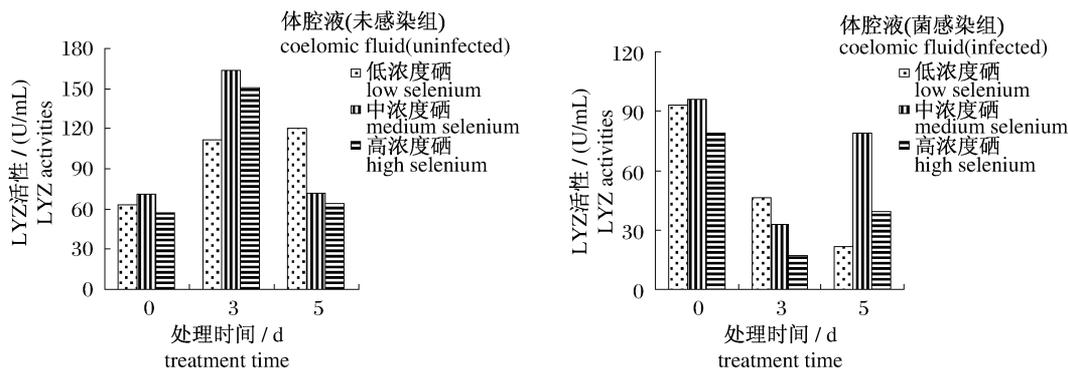


图5 亚硒酸钠对刺参体腔液 LYZ 活性的影响

Fig. 5 Effect of sodium selenite on the LYZ activities of holothurian coelomic fluid

2.6 亚硒酸钠对刺参生长状态的影响和组织毒理分析

对照组低浓度和中浓度的亚硒酸钠处理后,刺参触手伸缩正常,疣足坚实,体壁的伸缩正常,未见溃烂点出现,觅食正常,而高浓度亚硒酸钠处理 5 d 后触手收缩迟钝,体壁和疣足疲软,有溃烂斑点出现。

对照组低浓度和中浓度的亚硒酸钠处理后,刺参未见组织病变的产生,而高浓度亚硒酸钠处理后 5 d 的刺参肌肉、肠、触手、疣足都有不同程度的组织病理变化,病理变化主要出现在各器官的结缔组织以及上皮组织,并伴有受感染组织的

广泛坏死现象,刺参的肠组织失去正常排列结构,胶原纤维断裂、崩解或肿胀融合,并有嗜碱性包涵体样物质的存在;严重的出现上皮组织与基膜剥离,崩解脱落,在该处留下缺损,刺参肌肉细胞、触手组织细胞变松散,并出现空泡(图版)。低浓度亚硒酸钠处理刺参不同组织的毒理变化同中浓度处理。

2.7 亚硒酸钠对刺参抗菌感染活性的影响

随着亚硒酸钠浓度升高和处理时间的延长,发病刺参的症状表现为吐脏或内脏萎缩,触手伸缩活力下降,皮肤出现浸渍状浮肿斑直至破裂,最终导致刺参死亡。由图 6 可知,处理 3 d 后,随着

亚硒酸钠处理强度的增加,刺参的累计发病率上升,相对保护率下降,且低浓度和中浓度亚硒酸钠处理无显著差异;而处理5 d后,刺参的累计发病率表现为先下降然后升高的趋势,相对保护率下

降则先升高然后下降,且各处理组间差异存在明显差异。说明亚硒酸钠诱导的刺参抗病性与环境中的浓度和作用时间有一定的关系。

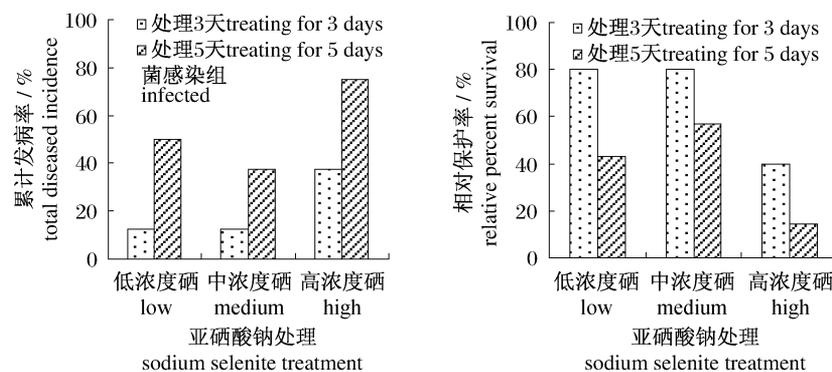


图6 亚硒酸钠对刺参累计发病率和相对保护率的影响

Fig. 6 Effect of sodium selenite on the total diseased incidence and relative percent survival of holothurian

3 讨论

SOD 是一种重要的抗氧化酶,可清除体内自由基,保持细胞免受损害,使细胞能正常合成各种酶类,对增强吞噬细胞活性和整个机体的免疫功能具有重要的作用^[14]。抗氧化性是硒生化作用的基础,硒作为依赖硒的谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的核心组成部分,参与了生物体中有机和无机过氧化物的清除过程^[15]。本试验中,随着亚硒酸钠处理强度增加,SOD 和 GPx 活性上升,其中 GPx 活性反应更敏感一些;在附加病原菌感染的情况下,SOD 活性进一步增强,而 GPx 活性只有在中等亚硒酸钠浓度时最高(图1、图2)。说明在亚硒酸钠的刺激下,GPx 相对于 SOD 能更好的反映出刺参对疾病免疫功能的抗氧化水平,只有适宜浓度的亚硒酸钠才能促进刺参体腔液总的抗氧化酶活性,从而提高刺参对病菌损伤的免疫力。

作为非特异性免疫物质之一,溶菌酶主要在肝脏内合成且分布在鱼类体液及体表黏液中,溶菌酶在抵抗感染性致病菌的最前沿防御机制中有重要作用^[16]。溶菌酶的激活作用可认为是生物体对污染的适应反应,可增强机体适应能力^[17];而酶活力的降低可认为污染对生物体的作用已超过机体的适应能力,是生物体中毒反应的前兆^[18]。本试验中,亚硒酸钠胁迫下,溶菌酶活性明显下降,但亚硒酸钠处理强度较轻时,溶菌酶活

性明显升高;同时,感染病菌的情况下,溶菌酶活性被明显抑制,其中中等浓度亚硒酸钠处理的酶活性抑制程度最小(图5)。说明刺参体腔液对适度亚硒酸钠胁迫能够产生适应性免疫反应,而且在胁迫诱导的抗感染性防御中有积极地作用,但是严重的亚硒酸钠胁迫也会加剧病原菌对刺参造成的致病损伤。

作为海洋无脊椎动物抵御外来病原感染的酚氧化酶原激活系统中主要成员的酚氧化酶(PO)在海洋无脊椎动物非特异性免疫系统中起着关键性作用^[19]。本试验中,无论是亚硒酸钠胁迫还是同时感染病菌的情况下,酚氧化酶均显著上升,尽管病菌感染抑制了胁迫诱导的酚氧化酶活性增加(图3),这表明刺参体腔液中的酚氧化酶对环境变化反应敏感,主要起到了非特异性免疫信号系统分子的作用,免疫防御功能可能依赖于其他物质。

磷酸酶是生物体内的重要代谢调控酶,不仅可以直接参与磷酸基团的转移,还可参与机体蛋白质的合成,是溶酶体酶的重要组成部分^[20]。Cheng^[21]认为,软体动物及低等的无脊椎动物的溶酶体酶是一种可诱导的“保护性”体液因子,起着与高等动物获得体液免疫相似的作用。本试验中,不适宜的亚硒酸钠处理促进了碱性磷酸酶活性,在病原菌感染的情况下,碱性磷酸酶活性增加的幅度急剧下降(图4),说明亚硒酸钠可通过影响刺参体内代谢来维持磷酸酶的活性平衡,从而

诱导刺参体腔液对病原菌损伤感染的免疫反应。

参考文献:

- [1] 高冬余,李吕木,梁林,等. 饲用有机硒的生理功能、生物合成途径及应用[J]. 饲料工业,2009,30(10):44-46.
- [2] 程道胜. 硒对细胞免疫功能影响的研究进展[J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册,1999,20(4):177-179.
- [3] 罗辉,周小秋. 硒与水生动物免疫功能的关系[J]. 动物营养学报,2006,18(S):378-382.
- [4] Hilton J W, Hodson P V, Sliinger S J. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout [J]. Journal of Nutrition,1980,110:2527-2535.
- [5] Safir N, Wendel A, Saile R, et al. The effect of selenium on immune functions of J774. 1 cells [J]. Clinical Chemistry Laboratory Medicine, 2003, 41(8):1005-1011.
- [6] Chiu S T, Hsieh S L, Yeh S P, et al. The increase of immunity and disease resistance of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* by feeding with selenium enriched-diet [J]. Fish & Shellfish Immunology,2010,29(4):623-629.
- [7] Minganti V, Drava G, DE Pellegrini R, et al. Trace elements in farmed and wild gilthead seabream, *Sparus aurata* [J]. Marine Pollution Bulletin,2010,60(11):2022-2025.
- [8] Dorr A J, Pacini N, Abete M C, et al. Effects of a selenium-enriched diet on antioxidant response in adult crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. Chemosphere,2008,73(7):1090-1095.
- [9] 常雅宁,刘金秀. 两种连苯三酚自氧化法测定超氧化物歧化酶的比较[J]. 药物分析杂志,2001(5):328-331.
- [10] 邓修惠,黄学梅. 改良 DTNB 比色法测定血清 GSH-Px 活力[J]. 重庆医学,2000,29(5):445.
- [11] 肖婷,刘守柱,薛超彬,等. 紫外分光光度计法与酶标仪微量法测定酚氧化酶蛋白含量及活力的比较[J]. 昆虫知识,2008,45(2):306-309.
- [12] 上海市医学化验所. 临床生化检验/上册[M]. 上海:上海科技出版社,1979:354-356.
- [13] Hultmark D, Steiner H, Rasmuson T, et al. Insect immunity: purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupase of *Hyalophora cecropia* [J]. European Journal Biochemistry,1980,106:7-16.
- [14] 艾春香,陈立侨,高露姣,等. V_C对河蟹血清和组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响[J]. 台湾海峡,2002,21(4):431-43.
- [15] Fang Y Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition [J]. Nutrition, 2002, 18:872-879.
- [16] 聂品. 鱼类非特异性免疫研究进展[J]. 水产学报,1997,21(1):69-741.
- [17] 高春生,王春秀,范光丽,等. 水体铜对黄河鲤非特异性免疫功能的影响[J]. 安全与环境学报,2008,8(4):1-4.
- [18] 姚从祯,臧维玲,戴习林,等. 铜、镉、敌敌畏和甲胺磷对南美白对虾幼虾的急性致毒及相互关系[J]. 上海水产大学学报,2003,12(2):118-122.
- [19] Soderhall K, Cerenius L. Role of the prophenoloxidase-activating system in invertebrate immunity [J]. Current Opinion in Immunology, 1998,10(1):23-28.
- [20] Hashimoto T, Ohno N, Adachi Y, et al. Nitric oxide synthesis in murine peritoneal macrophages by fungal beta-glucans [J]. Biology & Pharmaceutical Bulletin, 1997,20(9):1006-1009.
- [21] Cheng J C. Effects of pH, temperature and salinity on immune parameters of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Fish & Shellfish Immunology,2000,10:387-391.

Effect of sodium selenite on some enzymes of coelomic fluid to the immune response of holothurian *Apostichopus japonicus*

LIU Hong-zhan^{1,2}, ZHENG Feng-rong^{3*}, SUN Xiu-qin³, TANG Xue-xi¹

(1. College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

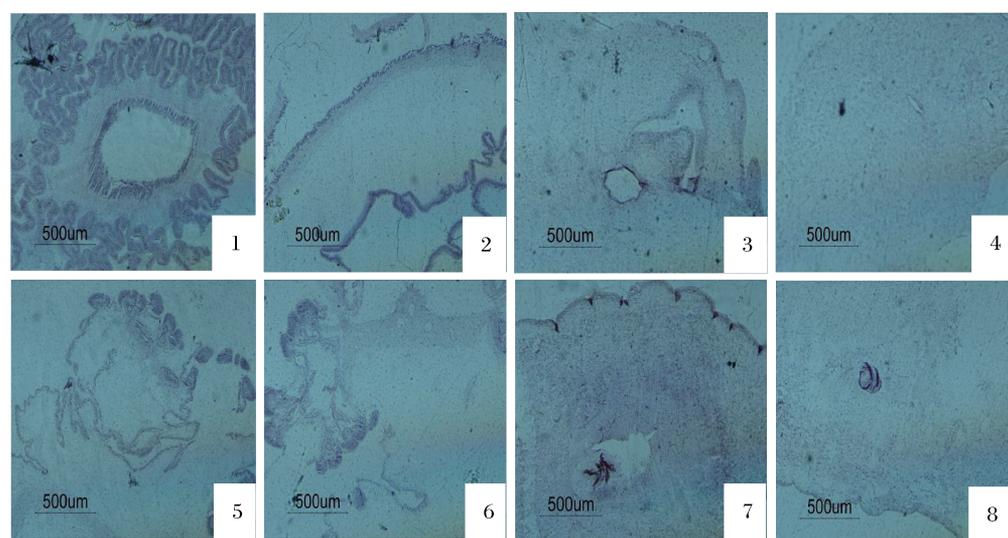
2. Marine College, Shandong University, Weihai 264209, China;

3. First Institute of Oceanography, State Ocean Administration of China, Qingdao 266061, China)

Abstract: The aquaculture of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Echinodermata, Holothuroidea) has been growing rapidly over recent years in China in response to increasing consumer demand. Indeed, it has become an important sector of the marine industry in Northern China. However, with rapid growth and the use of non-standard practices and culture techniques, epidemic diseases of *A. japonicus* now pose increasing problems to the industry. Therefore, the healthy aquaculture of *A. japonicus* is important. For a reasonable evaluation of selenium effect on sea cucumber aquaculture, using laboratory tests to simulate the sodium selenite treatment and virus infection conditions, the detection and observation of the sea cucumber body cavity fluid immune enzyme changes, pathological changes and the relative rate of protection were made. The results showed that: the change of immune enzymes in coelomic fluid of sea cucumbers under simulated sodium selenite treatments and bacteria infected conditions was tested in order to reasonably evaluate the influence of selenium on aquaculture diseases. Results indicated that the activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), lysozyme (LYZ), phenoloxidase (PO) and alkaline phosphatase (ALP) in coelomic fluid rose after sodium selenite treatments were enhanced. However, SOD, GP_x and LYZ activities first ascended and then declined, and PO and ALP activities showed continued rise under additional pathogen injection into sea cucumbers, but the increasing extent of ALP activity was reduced along with increased sodium selenite concentration, and total diseased incidence rose and relative percent survival decreased under the severe sodium selenite treatment. This suggested that applying sodium selenite with moderate concentration could enhance immunity of sea cucumber to bacterial infection, but infecting also aggravated immune damage of sea cucumber by sodium selenite stress. Therefore, the diseases of cultured sea cucumber can be alleviated by optimized use of selenium.

Key words: *Apostichopus japonicus*; sodium selenite; enzyme of coelomic fluid; immune response

Corresponding author: ZHENG Feng-rong. E-mail: zhengfr@fio.org.cn



图版 不同浓度亚硒酸钠处理刺参组织病理变化

1. 中浓度亚硒酸钠处理刺参肠组织; 2. 高浓度亚硒酸钠处理刺参肠组织; 3. 中浓度亚硒酸钠处理刺参体壁肌肉组织; 4. 高浓度亚硒酸钠处理刺参体壁肌肉组织; 5. 中浓度亚硒酸钠处理刺参触手组织病变; 6. 高浓度亚硒酸钠处理刺参触手组织; 7. 中浓度亚硒酸钠处理刺参疣足组织; 8. 高浓度亚硒酸钠处理刺参疣足组织。

Plate Histopathological changes of holothurian after treating on different concentrations of sodium

1. Intestines tissue on medium concentrations of sodium selenite; 2. Intestines tissue on high concentrations of sodium selenite; 3. Body wall muscle tissue on medium concentrations of sodium selenite; 4. Body wall muscle tissue on high concentrations of sodium selenite; 5. Tentacle tissue on medium concentrations of sodium selenite; 6. Tentacle tissue on high concentrations of sodium selenite; 7. Parapodium tissue on medium concentrations of sodium selenite; 8. Parapodium tissue on high concentrations of sodium selenite.