



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**RESPUESTA INMUNE Y NUTRICIONAL EN JUVENILES DE
Seriola rivoliana CON DIETAS SUPLEMENTADAS CON
HISTIDINA, BAJO CONDICIONES DE CULTIVO.**

T E S I S

Que para obtener el grado de

Doctora en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Acuicultura)

P r e s e n t a

Lizbeth Yanessa Macías Reyes

La Paz, Baja California Sur, julio de 2026.

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las **11:30** horas del día **18** del mes de **junio** del año **2026**, se procedió por las personas abajo firmantes, integrantes de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

Respuesta inmune y nutricional en juveniles de *Seriola rivoliana* con dietas suplementadas con histidina, bajo condiciones de cultivo.

Presentada por la alumna:

Lizbeth Yanessa Macías Reyes

Aspirante al Grado de DOCTORA EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Acuicultura**

Después de intercambiar opiniones las personas integrantes de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Grado y nombre	Estatus	Firma
Dra. Minerva Concepción Maldonado García	Co-Directora de Tesis	
Dr. Milton Alejandro Spanopoulos Zarco	Co-Director	
Dra. Alexia Omont	Co-Tutora	
Dr. Dariel Tovar Ramírez	Co-Tutor	
Dr. Deneb Maldonado García	Co-Tutor	



Dra. Alejandra Nieto Garibay,
Directora de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos



La Paz, Baja California Sur, a 29 de junio de 2026.

Los miembros del comité de tesis del (la) estudiante Lizbeth Yanessa Macías Reyes del Programa de Doctorado en Recursos Naturales, revisamos el contenido de la tesis y otorgamos el Vo.Bo. dado que la tesis no representa un plagio de otro documento como lo muestra el reporte de similitud realizado:

- Herramienta antiplagio:
iThenticate®
- Filtros utilizados:
Bibliografía, Texto citado, Texto
mencionado

13% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado

Fuentes principales

- 13% Fuentes de Internet
- 5% Publicaciones
- 0% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Co/Directores

Dra. Minerva C. Maldonado García

Dr. Milton A. Spanopoulos Zarco

Estudiante

M.C. Lizbeth Y. Macías Reyes

Personal técnico de asesoría en el análisis

Susana Luna García

Conformación de Comités

Comité Tutorial

Dra. Minerva Concepción Maldonado García
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Directora de Tesis

Dr. Milton Alejandro Spanopoulos Zarco
Universidad Autónoma de Baja California Sur.
Co-Director de Tesis

Dra. Alexia Omont
Secihti - Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Tutora de Tesis

Dr. Dariel Tovar Ramírez
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Tutor de Tesis

Dr. Deneb Maldonado García
Secihti - Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Tutor de Tesis

Comité Revisor de Tesis

Dra. Minerva Concepción Maldonado García
Dr. Milton Alejandro Spanopoulos Zarco
Dra. Alexia Omont
Dr. Dariel Tovar Ramírez
Dr. Deneb Maldonado García

Jurado de Examen

Dra. Minerva Concepción Maldonado García
Dr. Milton Alejandro Spanopoulos Zarco
Dra. Alexia Omont
Dr. Dariel Tovar Ramírez
Dr. Deneb Maldonado García

Suplentes

Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola
Dra. Laura Teresa Guzmán Villanueva

Resumen

La especie *Seriola rivoliana* comprende peces marinos carnívoros de alto valor comercial, reconocidos por su rápido crecimiento, elevada eficiencia alimenticia y excelente calidad de filete, características que han impulsado su interés en la acuicultura. Sin embargo, el desarrollo de su cultivo ha enfrentado retos técnicos relacionados con el conocimiento de sus requerimientos nutricionales específicos, debido a los altos requerimientos energéticos asociados a su naturaleza pelágica e intensa actividad natatoria.

En las primeras etapas, la especie presenta un crecimiento acelerado y, durante la fase juvenil, es alimentada por primera vez con dietas formuladas. En esta etapa, deficiencias nutricionales pueden provocar menor crecimiento, baja eficiencia alimenticia y mayor susceptibilidad al estrés. En este sentido, los aminoácidos esenciales actúan como aditivos funcionales capaces de modular la salud del organismo. Entre ellos, la histidina ha mostrado efectos positivos sobre el crecimiento, la eficiencia alimenticia y el estado fisiológico en peces marinos, especialmente en dietas con bajo contenido de harina de pescado. Por ello, el presente estudio evaluó el efecto de la suplementación dietética con histidina en juveniles de *Seriola rivoliana*, analizando su impacto en el crecimiento y la respuesta inmune.

Los resultados mostraron que la inclusión de histidina no produjo cambios significativos en el peso final, la tasa de crecimiento específica (TCE), el factor de conversión alimenticia (FCA) ni el índice de condición (*K*), coincidiendo con estudios previos en especies del mismo género. Sin embargo, se observó un incremento en la longitud corporal en los organismos alimentados con el mayor nivel de histidina, además de una menor expresión de los genes actina y miosina en músculo, lo que indica que la histidina favorece el crecimiento longitudinal más que el muscular. Asimismo, el tratamiento con mayor inclusión (S2) presentó mayor supervivencia y biomasa final. A nivel intestinal, la mayor longitud de vellosidades se registró en el tratamiento intermedio, mientras que el tratamiento con mayor inclusión promovió un incremento significativo en la producción de mucina. Esto sugiere que la histidina fortalece la barrera intestinal y reduce procesos inflamatorios y estrés oxidativo, evaluados mediante interleucinas y actividad de la enzima superóxido dismutasa. El análisis de correlaciones evidenció que la mucina desempeña un papel central, al relacionarse positivamente con la longitud, biomasa y supervivencia, y negativamente con marcadores inflamatorios y de estrés oxidativo.

En conjunto, estos hallazgos indican que la histidina no actúa principalmente como un promotor directo del crecimiento somático, sino como un modulador de la salud intestinal, la respuesta inmune y la eficiencia fisiológica. Por lo tanto, su inclusión en dietas para *Seriola rivoliana* representa una estrategia prometedora para optimizar el desempeño productivo y favorecer sistemas acuícolas más eficientes y sostenibles.

Palabras clave: Antiinflamatorio, Histidina, Mineralización, Mucina.

ORCID: [0009-0005-4813-5574](https://orcid.org/0009-0005-4813-5574)

Vo. Bo. Co-Directores de Tesis


Dra. Minerva Maldonado García


Dr. Milton Spanopoulos Zarco

Summary

The *Seriola rivoliana* comprises carnivorous marine fish of high commercial value, recognized for their rapid growth, high feed efficiency, and excellent fillet quality, characteristics that have increased their interest in aquaculture. However, the development of its cultivation has faced technical challenges, mainly related to understanding its specific nutritional requirements to promote proper development, especially due to the high energetic demands associated with its pelagic nature and intense swimming activity.

In this context, during the early stages, the species exhibits accelerated growth, and unlike the larval stage, juveniles are fed formulated diets for the first time. During this phase, imbalances in the nutritional profile may result in poor growth, lower feed utilization efficiency, and greater susceptibility to stress. In this sense, essential amino acids function as nutritional and functional additives capable of modulating organism health. Among essential amino acids, histidine supplementation in different genera of marine fish has shown positive effects on growth, feed efficiency, and physiological condition, especially in diets with low fishmeal content. Based on this, the present study evaluated the effect of dietary histidine supplementation in juvenile *S. rivoliana*, analyzing its impact on growth and immune response.

The results showed that histidine inclusion did not produce significant changes in final weight, specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR), or condition factor (K), in agreement with previous studies in species of the same genus. However, an increase in body length was observed in organisms that fed the highest histidine level, along with lower expression of actin and myosin genes in muscle tissue, demonstrating that histidine promotes a significant increase in body length rather than muscle development. Likewise, the treatment with the highest inclusion level (S2) showed greater survival and final biomass.

At the intestinal level, the greatest villus length was recorded in the intermediate treatment, while the treatment with the highest inclusion promoted a significant increase in mucin production. This suggests that histidine influences the intestinal barrier, which in turn reduced inflammatory processes and oxidative stress, evaluated through interleukins and superoxide dismutase enzyme activity. Correlation analysis revealed that mucin plays a central role, being positively associated with body length, biomass, and survival, and negatively associated with inflammatory and oxidative stress markers.

Overall, these findings indicate that histidine does not primarily act as a direct promoter of somatic growth, but rather as a modulator of intestinal health, immune response, and physiological efficiency. Therefore, its inclusion in diets for *S. rivoliana* represents a promising strategy to optimize productive performance and promote more efficient and sustainable aquaculture systems.

Keywords: Anti-Inflammatory, Histidine, Mineralization, Mucin.

ORCID: [0009-0005-4813-5574](https://orcid.org/0009-0005-4813-5574)

Vo. Bo. Co-Directores de Tesis


Dra. Minerva Maldonado García


Dr. Milton Spanopoulos Zarco

Dedicatoria

A mis padres.

Mamá, alguna vez me dijiste que desde pequeña nunca tuvieron que sentarse conmigo para hacer la tarea, porque siempre fui muy independiente con mis estudios. Con el tiempo entendí que esa independencia nunca significó estar sola. Mientras yo aprendía a caminar por mi cuenta, ustedes siempre estuvieron construyendo el camino para que pudiera seguir avanzando.

También recuerdo que alguna vez me dijiste que a ti te hubiera gustado dedicarte a la investigación. Creo que, sin proponértelo, sembraste ese sueño en mí. Tu manera de observar el mundo, de hacer preguntas, de interesarte por aprender y de disfrutar cada conversación despertó en mí una curiosidad que terminó convirtiéndose en una vocación. Nunca me dijiste que debía dedicarme a la ciencia; simplemente crecí en un hogar donde aprender siempre fue motivo de entusiasmo.

Todavía recuerdo tus desayunos antes de ir a la secundaria porque no querías que me fuera con el estómago vacío y que me llevabas todos los días a la escuela. También recuerdo cuando interviniste para que una mala decisión no terminara con mi historia en la preparatoria.

Cuando llegó el momento de elegir mi futuro, ustedes apostaron por mí. Pagaron solicitudes de admisión en dos universidades para que pudiera decidir dónde me sentiría más feliz, y nunca intentaron vivir mis decisiones por mí; me enseñaron a tomar las mías.

Durante la maestría, me regalaste el mayor privilegio que puede tener un estudiante: un hogar tranquilo donde pude dedicarme por completo a investigar y escribir. Gracias por leer mi tesis, ayudarme a que cada idea fuera más clara y por alentarme a terminarla.

Papá, siempre me dejaste descubrir el mundo, sabiendo que, si alguna vez necesitaba volver, ahí estarías. Recuerdo que fuiste tú quien me llevó por primera vez al CIBNOR para comenzar mi servicio social. Sin saberlo, ese recorrido marcó el inicio del camino que hoy me trae hasta aquí.

También recuerdo una infancia en la que nunca faltó nada: un hogar seguro, un refrigerador siempre lleno y la tranquilidad de saber que podía dedicarme a estudiar porque tú trabajabas cada día para hacerlo posible. Pero, sobre todo, recuerdo tu forma de ser conmigo: amable, juguetón y siempre dispuesto a hacerme reír. Gracias por darme la confianza para ser quien soy.

Hoy, durante este Doctorado, aunque ya no vivimos bajo el mismo techo, siguen procurando esa misma tranquilidad que me ha acompañado desde niña. Mirando hacia atrás, me doy cuenta de que el mayor regalo que me hicieron fue haber construido, durante toda mi vida, las condiciones para que yo pudiera dedicarme a aprender.

Este Doctorado lleva mi nombre, pero también está escrito con el amor y el esfuerzo de ustedes.

Hoy nos graduamos todos, si hoy se me reconoce como Doctora en Ciencias, la vida los reconoce a ustedes como los arquitectos de este logro.

Felicidades, **Gloria Reyes Sepúlveda** y **Gerardo Macías Ramírez**.

Agradecimientos

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. por permitirme formar parte de su posgrado y por las facilidades, infraestructura y apoyo brindados para el desarrollo de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico otorgado durante mis estudios de posgrado (CVU: 503223).

A mis Co-Directores de tesis, la Dra. Minerva Maldonado García y el Dr. Milton Spanopoulos Zarco, por su guía, confianza, paciencia y por compartir sus conocimientos a lo largo de este proceso, contribuyendo de manera fundamental a mi formación académica y al desarrollo de esta investigación.

A mi comité tutorial, integrado por el Dr. Deneb Maldonado García, el Dr. Dariel Tovar Ramírez y la Dra. Alexia Omont, por sus valiosas observaciones, sugerencias y aportaciones que enriquecieron este trabajo.

Al Dr. Ernesto Goytortúa Bores, Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola y Dra. Laura Teresa Guzmán Villanueva, quienes, aun sin formar parte oficial de mi comité, me brindaron orientación, apoyo y la oportunidad de desarrollarme en su laboratorio, lo cual fue clave para la realización de este estudio.

Al personal técnico del Laboratorio de Fisiología Comparada y Genómica Funcional, especialmente a Daniela Corona y Luis Collins, por su apoyo en las actividades de laboratorio y su disposición para colaborar en todo momento. A la Dra. Carmen Rodríguez Jaramillo, titular del Laboratorio de Histología, y a la Sra. Eulalia Meza, por su apoyo en los análisis histológicos. Al M. C. Pablo Monsalvo Spencer, Dr. Carlos Ernesto Ceseña y Francisco Javier Encarnación Ramírez, por su ayuda durante el mantenimiento de los organismos en cautiverio. A la M. C. Roxana Bertha Inohuye Rivera, responsable del Laboratorio de Diagnóstico Parasitológico, por su apoyo técnico durante el desarrollo de este trabajo. Al Dr. Marco Antonio Hernández de Dios y Dra. Andressa Teles por su valioso apoyo durante el desarrollo de esta tesis. Su asesoría fue enriquecedora para la realización de este trabajo. Asimismo, agradezco su colaboración en las actividades de muestreo y el acompañamiento brindado a lo largo del proceso de investigación.

A la empresa Kampachi Farms, México y Omega Azul, M. en C. Mauricio Moreno Alva, Michael Bullock, Rafael Chavez, proyecto 20558 “Reproducción controlada de peces marinos”, por las facilidades otorgadas para la obtención de los organismos utilizados en esta investigación. Proyecto 321279 PRONACE-PRONAI Soberanía Alimentaria por la obtención de recursos económicos. También reconocen el apoyo del Departamento de Mantenimiento Electromecánico del CIBNOR, en particular de los ingenieros Ramón Altamirano Cobos, René Gaxiola Márquez, Francisco Aguillón León, Julio Reyes García y Víctor Ormart; y del Departamento de

Mantenimiento y Servicios Generales, especialmente de los ingenieros Juan Mandujano García y Jessica Calvillo González. Finalmente, agradecen al personal administrativo del CIBNOR. El apoyo de todo el equipo ha sido fundamental para el desarrollo de la investigación con peces marinos, y su colaboración resulta indispensable para la realización de futuros proyectos.

Al personal de la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del CIBNOR, especialmente a la Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro, ex directora de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos, y a la Dra. Alejandra Nieto Garibay, actual directora, por su apoyo y gestión. Asimismo, a la Mtra. Osvelia Ibarra, Lic. Leticia González, Tania Verónica Núñez, Ing. Horacio Sandoval y Dra. Norma Hernández Saavedra, por su orientación y apoyo en los procesos administrativos.

A mis compañeros y amigos, Rodrigo Rodríguez Victorio, Juan Hilario Alvarado Castro, por el apoyo, las experiencias compartidas y el acompañamiento durante este camino.

A la psicóloga Refugio “Cuqui” Castro, por su apoyo y acompañamiento en momentos importantes a lo largo de este proceso.

Finalmente, a mi madre y a mi pareja, quienes día a día estuvieron presentes a lo largo de las distintas etapas de este doctorado, acompañándome con paciencia, comprensión y apoyo constante. Gracias por alentarme a continuar en los momentos de mayor exigencia y cansancio, y por brindarme siempre un espacio de tranquilidad que hizo posible culminar este proceso.

Contenido

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	vi
Lista de figuras	viii
Lista de tablas	ix
Nomenclatura y unidades	x
1. INTRODUCCIÓN	2
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Estado actual de la acuicultura	4
2.2 Acuicultura del género <i>Seriola</i>	5
2.3 Limitaciones nutricionales en la etapa juvenil del género <i>Seriola</i>	9
2.4 Papel de la histidina en el desarrollo de peces marinos	10
2.5 Propiedades bioquímicas de la histidina	12
3. JUSTIFICACIÓN	15
4. HIPÓTESIS	17
5. OBJETIVOS	18
5.1 Objetivo general	18
5.2 Objetivos específicos	18
6. MATERIALES Y MÉTODOS	19
6.1 Redacción de artículo de revisión	19
6.2 Obtención de los organismos para el bioensayo	19
6.3 Elaboración de las dietas experimentales	20
6.4 Diseño experimental del bioensayo	22
6.5 Manejo de organismos	23
6.6 Muestreos	23
6.7 Índices biométricos	23
6.8 Actividad enzimática	24
6.8.1 Preparación de extractos	24
6.8.2 Actividad superóxido dismutasa	24
6.8.3 Peroxidasa	25
6.8.4 Catalasa	26
6.9 Cuantificación de la expresión de genes	26
6.10 Histología	27
6.11 Análisis estadísticos	29
7. RESULTADOS	30
7.1 Índices biométricos	30
7.2 Morfología Intestinal	2
7.3 Actividad enzimática	7
7.4 Morfología hepática	8
7.5 Expresión de genes	9
7.6 Correlaciones	11

8. DISCUSIÓN	14
8.1 Efecto de la histidina sobre el crecimiento y rendimiento zootécnico	14
8.2 Integridad intestinal y respuesta inmune.....	18
8.3 Regulación de la expresión génica asociada al crecimiento	25
8.4 Correlaciones funcionales que vinculan el crecimiento, las mucinas y la supervivencia ...	27
8.5 Implicaciones para las prácticas de nutrición y acuicultura de <i>S. rivoliana</i>	32
9. CONCLUSIONES.....	34
10. LITERATURA CITADA	35
11. ANEXOS	42
Anexo A.-Artículo publicado.-Histidine as a key nutrient for enhancing reproductive performance and larval survival in marine fish: a mechanistic review.....	42
Anexo B.-Artículo sometido.-Effects of histidine supplementation in juvenile <i>S. rivoliana</i> diet on their growth and immune response.....	76

Lista de figuras

Figura 1. Producción mundial por modalidad de cultivo de peces marinos por especie (toneladas peso-vivo)(FAO, 2024c).	6
Figura 2. Serie histórica de la producción mundial por modalidad de cultivo del género <i>Seriola</i> (FAO, 2024c).	7
Figura 3. Producción Acuícola Nacional de <i>S. rivoliana</i> . (FAO, 2024c).	8
Figura 4. Análisis de varianza de peso según tiempo de cultivo y tratamiento.	31
Figura 5. Análisis de varianza de longitud según tiempo de cultivo y tratamiento.	31
Figura 6. Evaluación histomorfométrica de longitud de vellosidades intestinales (A) y cobertura de células caliciformes y cobertura de mucinas en respuesta a tratamientos (B).	3
Figura 7. Secciones histológicas del tejido intestinal teñidas con hematoxilina y eosina (H&E). ...	4
Figura 8. Aumento progresivo en la zona cubierta de mucina con aumento del porcentaje de histidina: control (A, A'), S1 (B, B') y mayor área en S2 (C, C').	5
Figura 9. Grosor de la pared del intestino anterior en los diferentes tratamientos experimentales.	6
Figura 10. Actividad enzimática (U/mg) en respuesta a tratamientos.	7
Figura 11. Evaluación histológica del hígado y porcentaje de cobertura lipídica en juveniles de <i>Seriola rivoliana</i> en el tratamiento control (A), tratamiento S1 (B) y tratamiento S2 (C).	9
Figura 12. Expresión relativa normalizada de IL-10, IL-1 β , actina, IGF y miosina bajo diferentes tratamientos de suplementación con histidina.	11
Figura 13. Mapa de calor de correlaciones de Pearson entre variables fisiológicas, bioquímicas y morfológicas.	13

Lista de tablas

Tabla 1. Dimensiones de pellet en la evolución del cultivo.....	20
Tabla 2. Composición proximal y de histidina (% base seca) de dietas experimentales. Los datos fueron analizados mediante ANOVA de una vía a un $\alpha = 0.05$. Letras iguales indican ausencia de diferencias significativas entre tratamientos.....	21
Tabla 3. Aminoácidos esenciales y no esenciales en la dieta (% peso seco).	22
Tabla 4. Técnica de Hematoxilina Eosina de Harris (Humason, 1997).	28
Tabla 5. Técnica de tinción Azul alcian-Schiff.	29
Tabla 6. Rendimiento final de crecimiento de los organismos alimentados con las dietas de prueba	2

Nomenclatura y unidades

Símbolo / Abreviatura	Significado	Unidad
ADNc	ADN complementario	—
ANOVA	Análisis de varianza	—
CAT	Catalasa	U·mg ⁻¹ proteína
FCA	Factor de conversión alimenticia	—
GPx	Glutación peroxidasa	U·mg ⁻¹ proteína
H&E	Hematoxilina y eosina	—
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución	—
ICA	Índice de conversión alimenticia	—
IGF	Factor de crecimiento similar a la insulina	Expresión relativa
<i>IL-1β</i>	Interleucina 1 beta	Expresión relativa
<i>IL-10</i>	Interleucina 10	Expresión relativa
K	Factor de condición de Fulton	—
L-Histidina HCl	Clorhidrato de L-histidina	% dieta
MyD88	Myeloid differentiation primary response 88	Expresión relativa
PAS	Ácido periódico de Schiff	—
qPCR	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real	—
ROIs	Especies reactivas derivadas del oxígeno	—
SOD	Superóxido dismutasa	U·mg ⁻¹ proteína
TCE	Tasa de crecimiento específica	%·día ⁻¹
ARN	Ácido ribonucleico	—
ARNm	ARN mensajero	—
°C	Grados Celsius	—
g	Gramo	—
kg	Kilogramo	—
mg	Miligramo	—
μg	Microgramo	—
mL	Mililitro	—

L	Litro	—
μL	Microlitro	—
mm	Milímetro	—
cm	Centímetro	—
m^3	Metro cúbico	—
$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	Miligramos por litro	—
$\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$	Litros por minuto	—
rpm	Revoluciones por minuto	—
ups	Unidades prácticas de salinidad	—
nm	Nanómetro	—
pH	Potencial de hidrógeno	—

1. INTRODUCCIÓN

El género *Seriola* comprende un grupo de peces marinos carnívoros de alto valor comercial, ampliamente reconocidos por su rápido crecimiento, elevada eficiencia alimenticia y calidad del filete, características que han impulsado su interés en la acuicultura a nivel mundial (Nakada, 2008). Especies como *Seriola lalandi*, *Seriola dumerili*, *Seriola quinqueradiata* y *Seriola rivoliana* han sido objeto de un creciente número de estudios orientados a optimizar su cultivo, particularmente en sistemas intensivos, donde el desempeño productivo depende en gran medida del manejo nutricional (Booth *et al.*, 2010; Djellarta, 2021).

En el ámbito internacional, la acuicultura del género *Seriola* se ha consolidado principalmente en regiones como Japón, el Mediterráneo y Australia, donde su producción ha aumentado de manera sostenida en las últimas décadas. Sin embargo, el desarrollo de su cultivo ha estado acompañado por retos técnicos relacionados con la formulación de dietas, el conocimiento de los requerimientos nutricionales específicos y la adaptación a ingredientes alternativos a la harina de pescado, cuyo uso se ha visto impulsado por razones económicas y de sostenibilidad (Ruchimat *et al.*, 1997; Watanabe y Yoshimizu, 2000; Takakuwa *et al.*, 2006; Booth *et al.*, 2010). Estas limitaciones son particularmente relevantes en especies de metabolismo elevado, como las del género *Seriola*, que presentan altos requerimientos energéticos y proteicos asociados a su estilo de nado activo y fisiología carnívora.

A nivel nacional, el cultivo de *Seriola* representa un área de oportunidad estratégica para la diversificación de la acuicultura marina. No obstante, su consolidación productiva aún enfrenta desafíos importantes, entre ellos la optimización de las etapas tempranas y juveniles, las cuales son determinantes para el éxito del ciclo de engorda. Diversos estudios han demostrado que el desempeño observado en etapas posteriores está fuertemente influenciado por la calidad nutricional recibida durante fases tempranas del desarrollo, lo que subraya la necesidad de estrategias alimenticias más precisas y específicas para cada etapa (Teles, 2019; Djellarta, 2021). La etapa juvenil constituye un periodo crítico dentro del ciclo productivo de los peces marinos, caracterizado por altas tasas de crecimiento, intensa actividad metabólica y una fuerte demanda

de nutrientes, particularmente de proteína y aminoácidos esenciales. Durante esta fase, los organismos dependen casi exclusivamente de dietas formuladas, lo que incrementa el riesgo de desequilibrios nutricionales si los requerimientos específicos no son cubiertos de manera adecuada. En este contexto, se ha señalado que el crecimiento subóptimo, la baja eficiencia en la utilización de la proteína y la susceptibilidad al estrés pueden estar asociados no solo a la cantidad de nutrientes suministrados, sino también a la calidad y balance del perfil aminoacídico de la dieta (Booth *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2014).

La reformulación progresiva de dietas acuícolas, orientada a reducir el uso de harina de pescado mediante la inclusión de ingredientes de origen vegetal u otras fuentes proteicas alternativas, ha puesto de manifiesto la importancia de evaluar aminoácidos específicos que pueden convertirse en factores limitantes funcionales. Entre estos, la histidina ha recibido especial atención debido a su papel esencial en la fisiología de los peces, así como a su variabilidad en diferentes ingredientes proteicos utilizados en la formulación de alimentos balanceados (Yamamoto *et al.*, 2019).

Diversos estudios en peces marinos y dulceacuícolas han evidenciado que la histidina no solo participa en la síntesis proteica, sino que también está involucrada en procesos fisiológicos claves relacionados con el metabolismo muscular, la regulación ácido-base y la respuesta al estrés, aspectos particularmente relevantes durante la etapa juvenil. En especies cercanas filogenéticamente o de interés acuícola similar, la suplementación con histidina ha mostrado efectos positivos sobre el crecimiento, el estado fisiológico y la eficiencia alimenticia, especialmente cuando se emplean dietas con bajo contenido de harina de pescado (Li *et al.*, 2014; Zehra y Khan, 2016; Yamamoto *et al.*, 2019; Saavedra *et al.*, 2020).

A pesar de estos avances, la información disponible sobre el papel específico de la histidina en juveniles de *Seriola rivoliana* es aún limitada, particularmente bajo condiciones de cultivo y dietas formuladas. Considerando la importancia de esta etapa para el desempeño productivo posterior, resulta necesario profundizar en el estudio de estrategias nutricionales que permitan optimizar el desarrollo somático y fisiológico de los juveniles, contribuyendo así a la consolidación del cultivo de esta especie.

En este contexto, el presente estudio se enfoca en evaluar la suplementación de histidina en la dieta de juveniles de *Seriola rivoliana*, con el objetivo de aportar información que permita mejorar el entendimiento de sus requerimientos nutricionales y fortalecer las bases para un manejo alimenticio más eficiente durante una etapa crítica de su ciclo de vida.

2. ANTECEDENTES

2.1 Estado actual de la acuicultura

En las últimas décadas, la pesca y la acuicultura han experimentado una transformación significativa a nivel global, consolidándose como sectores clave para la seguridad alimentaria y el desarrollo económico. De acuerdo con el informe más reciente de la FAO (2024a), la producción mundial de recursos pesqueros y acuícolas alcanzó un máximo histórico de aproximadamente 223 millones de toneladas en 2022, evidenciando un crecimiento sostenido respecto a años anteriores.

Un aspecto relevante de este crecimiento es el papel predominante que ha adquirido la acuicultura. Por primera vez en la historia, la producción acuícola superó a la pesca de captura en términos de animales acuáticos destinados al consumo humano, representando alrededor del 51 % del total mundial (Naylor *et al.*, 2021; FAO, 2024b). Este cambio refleja la creciente presión sobre los recursos pesqueros naturales y la necesidad de sistemas de producción más controlados y eficientes.

En contraste, la pesca de captura se ha mantenido relativamente estable desde finales de la década de 1980, con una producción cercana a los 92 millones de toneladas anuales (FAO, 2024b). Esto sugiere que muchos stocks pesqueros han alcanzado su límite máximo de explotación sostenible, lo que ha impulsado la expansión de la acuicultura como alternativa para satisfacer la demanda global de alimentos de origen acuático.

El consumo mundial de productos pesqueros también ha mostrado una tendencia creciente, alcanzando aproximadamente 20.7 kg per cápita en 2022, lo que representa un aumento considerable en comparación con décadas anteriores. Este incremento se asocia con factores como el crecimiento poblacional, el aumento de ingresos y la mayor conciencia sobre los beneficios nutricionales del pescado (FAO, 2024b; a).

No obstante, el sector pesquero enfrenta desafíos importantes relacionados con la sostenibilidad ambiental, la sobreexplotación de recursos, el cambio climático y la necesidad de mejorar la gobernanza y las prácticas productivas. En este contexto, la FAO promueve el enfoque de

“Transformación Azul”, orientado a incrementar la producción de manera sostenible, eficiente e inclusiva, garantizando al mismo tiempo la conservación de los ecosistemas acuáticos y el bienestar de las comunidades dependientes de estos recursos (FAO, 2024a).

A futuro, se prevé que la producción mundial continúe en aumento, impulsada principalmente por la acuicultura, consolidando su papel como uno de los pilares fundamentales en el suministro global de proteínas de alta calidad (OCDE. y FAO., 2024).

2.2 Acuicultura del género *Seriola*

El género *Seriola* comprende peces pelágicos carnívoros de alto valor comercial, comúnmente conocidos como jureles, que han adquirido creciente relevancia en la acuicultura marina debido a su rápido crecimiento, alta eficiencia alimenticia y excelente calidad de carne (Nakada, 2008; Espinoza *et al.*, 2009; Córdova-Criollo, 2015; Fernández-Palacios *et al.*, 2015b). Estas características los posicionan como candidatos prometedores para diversificar la producción acuícola global, particularmente en sistemas marinos en mar abierto.

A nivel mundial, la producción acuícola de especies del género *Seriola* ha mostrado un crecimiento sostenido en las últimas décadas; sin embargo, su volumen aún es relativamente bajo en comparación con especies consolidadas como el salmón, la dorada o la lubina (Fig. 1). De acuerdo con datos recientes de la FAO, la producción global de jurel cultivado alcanzó aproximadamente 170,041 toneladas en peso vivo, situándose entre los 10 grupos de peces marinos de mayor desarrollo productivo (FAO, 2024c).

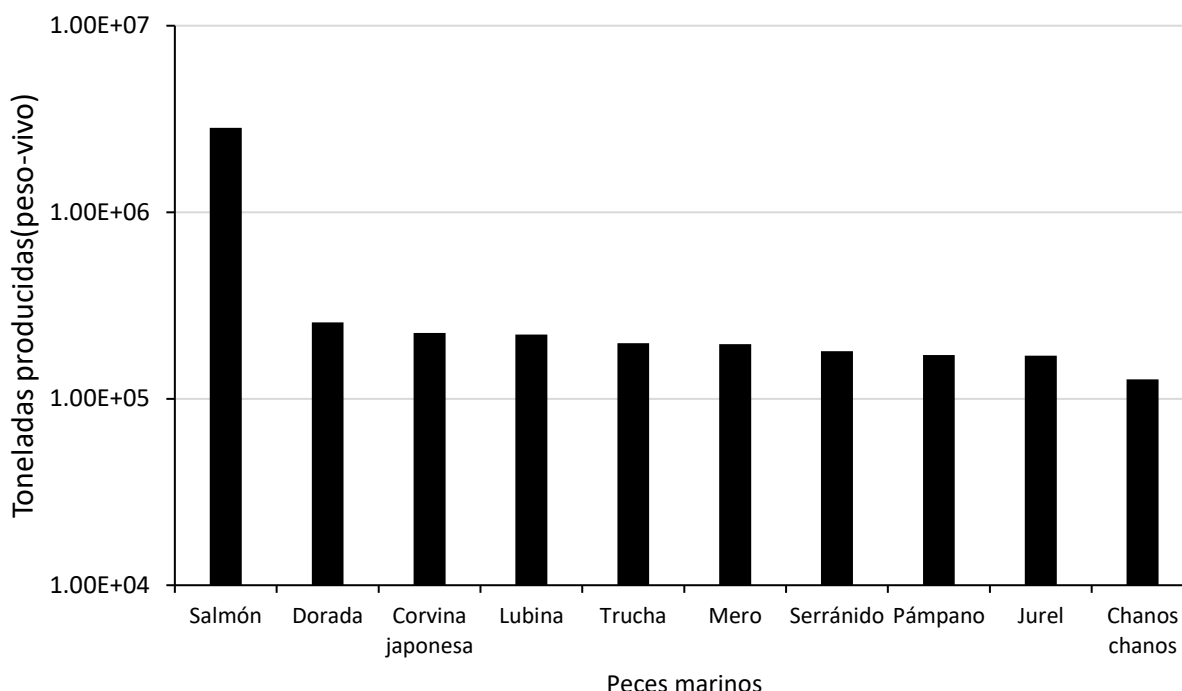


Figura 1. Producción mundial por modalidad de cultivo de peces marinos por especie (toneladas peso-vivo)(FAO, 2024c).

En términos de distribución geográfica, la producción de *Seriola* se encuentra altamente concentrada en Asia. Japón destaca como el principal productor mundial, con aproximadamente 256,600 toneladas, seguido por China con 38,704 toneladas reportados en 2023 (FAO, 2024c). Otros países con producción relevante incluyen Panamá (10,026 toneladas), Malasia (5,480 toneladas), Países Bajos (2,700 toneladas) y México (270.67 toneladas), cuya producción aún es incipiente en comparación con los líderes globales (Fig. 2). Esta distribución refleja tanto el desarrollo tecnológico como la tradición de consumo de estas especies en mercados asiáticos, particularmente en el caso de *Seriola quinqueradiata*, ampliamente cultivada en Japón (Nakada, 2008; Reyes-Medrano, 2014; FAO, 2024c).

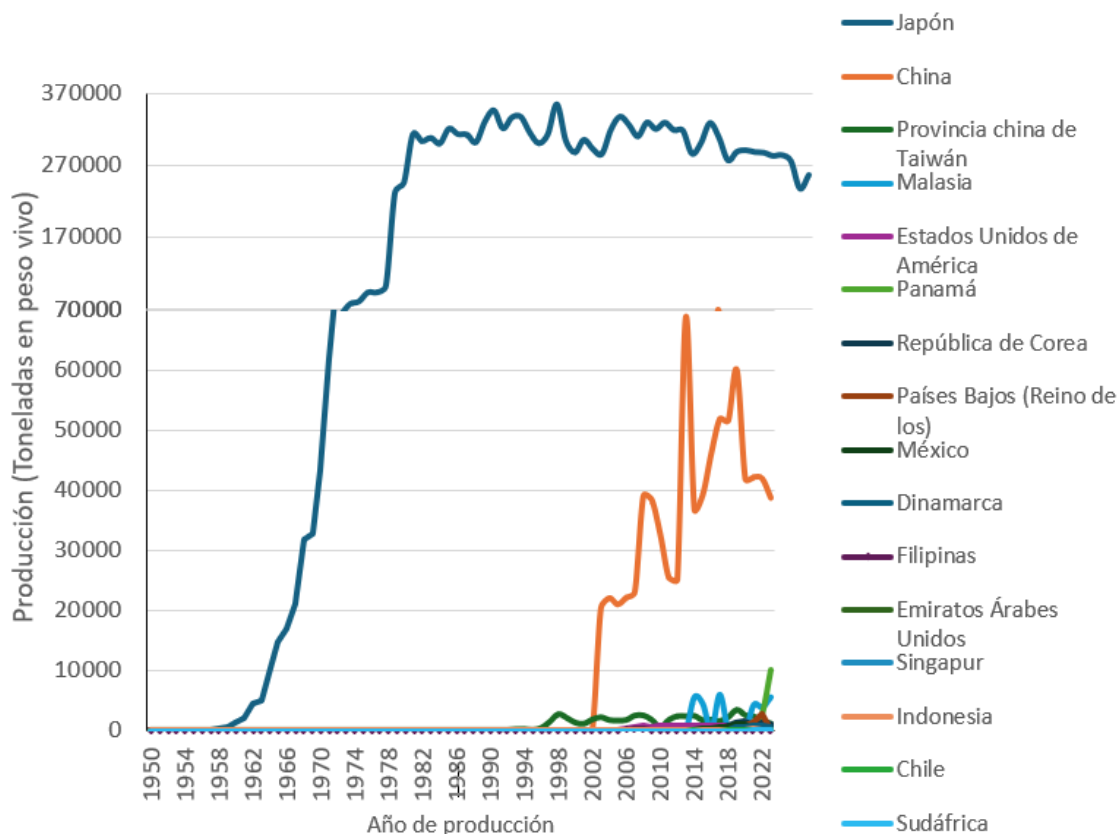


Figura 2. Serie histórica de la producción mundial por modalidad de cultivo del género *Seriola* (FAO, 2024c).

Entre las especies más importantes en acuicultura destacan *Seriola quinqueradiata*, *Seriola lalandi*, *Seriola dumerili* y *Seriola rivoliana* (FAO, 2024c). Estas especies presentan diferencias en su distribución geográfica, tasas de crecimiento y tolerancia ambiental, lo que ha permitido su adaptación a distintos sistemas de cultivo a nivel global. En particular, *S. quinqueradiata* domina la producción mundial, mientras que *S. lalandi* y *S. rivoliana* han cobrado importancia en sistemas de cultivo en América y otras regiones (FAO, 2010; Roo *et al.*, 2014).

En América, especialmente en México y Estados Unidos, *Seriola rivoliana* ha sido objeto de creciente interés por parte de la industria acuícola, debido a su rápido crecimiento, buena conversión alimenticia y adaptabilidad a sistemas de cultivo en mar abierto (Fernández-Palacios *et al.*, 2015a; Laidley *et al.*, 2020). Empresas como Blue Ocean Mariculture, Kampachi Farms y Omega Azul han impulsado el desarrollo tecnológico y productivo de esta especie desde inicios del siglo XXI.

En el caso de México, la producción de *Seriola rivoliana* ha mostrado una tendencia variable, pero con incrementos importantes en ciertos periodos (Fig. 3). De acuerdo con FAO (FAO, 2024c), la producción nacional entre 2011 y 2023 ha oscilado desde valores iniciales cercanos a 5 toneladas hasta máximos de más de 500 toneladas, reflejando tanto el potencial de la especie como los desafíos asociados a su cultivo, incluyendo costos operativos, manejo sanitario y desarrollo tecnológico.

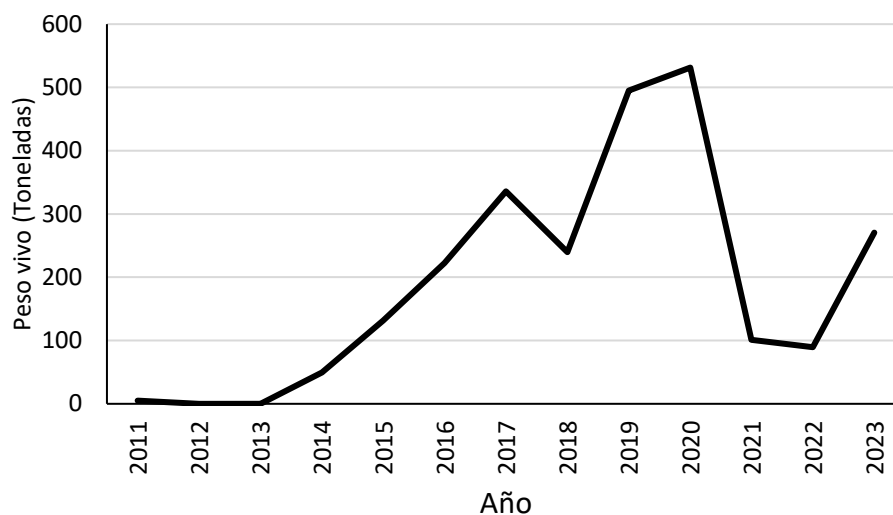


Figura 3. Producción Acuícola Nacional de *S. rivoliana*. (FAO, 2024c).

A pesar de su potencial, la acuicultura de *Seriola* enfrenta limitaciones importantes que han frenado su expansión a gran escala. Entre los principales retos se encuentran la alta dependencia de alimentos balanceados con ingredientes marinos, la susceptibilidad a enfermedades, la necesidad de mejorar la producción de juveniles y los elevados costos de operación en sistemas en mar abierto. No obstante, avances recientes en nutrición, genética y sistemas de cultivo han permitido mejorar la viabilidad productiva de estas especies (Benitez, 2018; Cruz, 2019; Teles *et al.*, 2022).

En este contexto, diversos estudios han señalado que el género *Seriola* representa una oportunidad estratégica para diversificar la acuicultura marina y reducir la presión sobre pesquerías tradicionales, contribuyendo potencialmente a la seguridad alimentaria global y al desarrollo sostenible del sector acuícola (Naylor *et al.*, 2021).

2.3 Limitaciones nutricionales en la etapa juvenil del género *Seriola*

La etapa juvenil en peces marinos constituye un periodo de alta vulnerabilidad nutricional debido a la coexistencia de rápidas tasas de crecimiento, reorganización metabólica, diferenciación tisular activa y transición definitiva hacia dietas formuladas. En especies del género *Seriola*, este periodo sucede tras fases larvarias intensamente estudiadas desde el punto de vista nutricional y de manejo, donde se ha demostrado que pequeños desbalances dietarios pueden tener efectos persistentes sobre el crecimiento, la estructura muscular y el desarrollo esquelético (Teles, 2019; Djellarta, 2021). Sin embargo, una vez superada la etapa larvaria, los juveniles continúan enfrentando desafíos nutricionales importantes, particularmente asociados a la adecuación cualitativa de la proteína en la dieta y al suministro balanceado de aminoácidos esenciales (Ogata, 2002; Booth *et al.*, 2010; Pirozzi *et al.*, 2019; Yamamoto *et al.*, 2019; Booth y Pirozzi, 2022).

Estudios realizados en juveniles de *Seriola lalandi* han evidenciado que, aun cuando se satisfacen los requerimientos energéticos y de proteína digestible, la eficiencia de utilización de la proteína puede verse limitada por desequilibrios aminoacídicos, afectando el crecimiento somático y la conversión alimenticia (Booth *et al.*, 2010). Estas limitaciones se vuelven más evidentes en el contexto de dietas formuladas modernas, donde la reducción de harina de pescado y la inclusión de ingredientes alternativos pueden comprometer la disponibilidad relativa de ciertos aminoácidos esenciales, generando deficiencias funcionales más que carencias absolutas.

Durante la etapa juvenil, el músculo esquelético experimenta una intensa actividad de hiperplasia e hipertrofia, procesos altamente dependientes de un suministro adecuado de aminoácidos para la síntesis proteica y la regulación del metabolismo celular. Evidencia proveniente de distintas especies marinas y dulceacuícolas indica que deficiencias nutricionales en esta fase pueden manifestarse como reducciones en el crecimiento, alteraciones en la celularidad muscular, disminución en los índices de eficiencia proteica y cambios en marcadores fisiológicos como el perfil hematológico y la relación RNA/DNA, indicadores directos del estado anabólico del organismo (Li *et al.*, 2014; Zehra y Khan, 2016).

Adicionalmente, se ha documentado que juveniles sometidos a dietas nutricionalmente subóptimas presentan una mayor susceptibilidad al estrés, reflejada en alteraciones fisiológicas

y metabólicas que pueden comprometer tanto el rendimiento productivo como la calidad del pez (Monge-Ortiz *et al.*, 2018). En este contexto, la etapa juvenil no solo representa una fase de crecimiento acelerado, sino también un periodo donde se consolidan funciones fisiológicas clave, por lo que las limitaciones nutricionales pueden tener consecuencias a mediano y largo plazo sobre el desempeño del organismo en sistemas de cultivo.

En conjunto, la literatura sugiere que las limitaciones nutricionales en juveniles de peces marinos no responden únicamente a la cantidad de proteína o energía suministrada, sino a la precisión del perfil aminoacídico de la dieta, lo que ha motivado el estudio específico de aminoácidos esenciales como factores críticos para optimizar el desarrollo juvenil.

2.4 Papel de la histidina en el desarrollo de peces marinos

La histidina es un aminoácido esencial en peces, cuya relevancia fisiológica durante la etapa juvenil ha sido ampliamente documentada en diversas especies marinas y continentales (Klein y Halver, 1970; Ogata, 2002; Li *et al.*, 2014; Zehra y Khan, 2016; Peachey *et al.*, 2018; Yamamoto *et al.*, 2019; Saavedra *et al.*, 2020; Booth y Pirozzi, 2022). Más allá de su función estructural en la síntesis proteica, la histidina participa en procesos metabólicos y reguladores clave, incluyendo la formación de dipéptidos como la carnosina y la anserina, involucrados en la regulación del pH muscular, la protección frente al estrés oxidativo y la estabilidad metabólica del tejido muscular (Suyama y Yoshisawa, 1973; Suzuki *et al.*, 1987; Wade y Tucker, 1998; Ogata, 2002; Vaughan-Jones *et al.*, 2009). Estas funciones adquieren especial importancia durante la etapa juvenil, cuando el músculo representa el principal destino de los nutrientes absorbidos y el crecimiento es altamente dependiente del metabolismo proteico eficiente.

Diversos estudios han demostrado que deficiencias de histidina en la dieta de juveniles conducen a una amplia gama de alteraciones fisiológicas. En especies marinas como *Pseudosciaena crocea* y *Sciaenops ocellatus*, la insuficiencia de histidina se ha asociado con disminución del crecimiento, menor ganancia proteica, alteraciones hematológicas y cambios en la composición corporal, evidenciando su papel central en la homeostasis sistémica (Li *et al.*, 2014; Peachey *et al.*, 2018). Estas respuestas sugieren que la histidina no solo limita el crecimiento, sino que afecta procesos fisiológicos integrales del organismo.

En juveniles de peces carnívoros, incluyendo especies del género *Seriola*, la problemática de la histidina se intensifica en el contexto de dietas con bajo contenido de harina de pescado, donde su disponibilidad relativa puede verse comprometida. Yamamoto *et al.* (2019) y Ogata (2002) demostraron que la suplementación con histidina mejora el crecimiento y modifica los niveles de aminoácidos libres en tejidos de juveniles de *Seriola quinqueradiata*, evidenciando una respuesta directa del metabolismo aminoacídico ante el ajuste dietario de este aminoácido.

Asimismo, estudios en *Argyrosomus regius* han mostrado que la suplementación con histidina no solo impacta el crecimiento, sino también parámetros relacionados con la respuesta al estrés y el estado fisiológico de los juveniles (Saavedra *et al.*, 2020). Estos efectos podrían estar asociados, al menos en parte, con la capacidad antioxidante de la histidina, ya que este aminoácido participa en mecanismos que limitan la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS).

Los organismos cuentan con tres mecanismos de protección o defensa antioxidantes. Los primeros dos mecanismos son endógenos e incluyen la presencia de enzimas intracelulares, como las enzimas antioxidantes SOD, catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx), capaces de degradar/neutralizar a las ROS y, también las enzimas de reparación que pueden restablecer los daños provocados por las ROS en el DNA, membranas y proteínas del hospedero (Warner, 1994). El tercer mecanismo incluye compuestos antioxidantes de origen exógeno, como el ácido ascórbico (vitamina C), el glutatión y el α -tocoferol (vitamina E), los cuales actúan neutralizando directamente los radicales libres (Valenti *et al.*, 2011).—Asimismo, existen compuestos que previenen la generación de radicales, como la histidina (Erickson y Hultin, 1988; Wade y Tucker, 1998; Feng *et al.*, 2013).

El perfil hematológico y la celularidad muscular, reforzando la idea de que este aminoácido cumple funciones regulatorias críticas durante el desarrollo juvenil (Saavedra *et al.*, 2020). Estos efectos son consistentes con observaciones en otras especies, donde la histidina se asocia con una mejor capacidad de adaptación fisiológica frente a condiciones de cultivo intensivo.

Investigaciones en peces dulceacuícolas como *Catla catla* también han aportado evidencia sobre la relación entre la histidina e indicadores moleculares de crecimiento, como la relación RNA/DNA, así como su influencia sobre la composición corporal y la eficiencia en la retención

proteica (Zehra y Khan, 2016). La coincidencia de estos hallazgos entre especies filogenéticamente distintas sugiere que el papel de la histidina como aminoácido clave durante la etapa juvenil es conservado y funcionalmente relevante.

En conjunto, la literatura indica que la histidina puede actuar como un aminoácido limitante funcional durante el desarrollo juvenil, especialmente bajo esquemas de alimentación intensiva y dietas formuladas. Su suplementación ha sido propuesta como una estrategia nutricional para optimizar el crecimiento, mejorar la eficiencia proteica, favorecer el desarrollo muscular y fortalecer la estabilidad fisiológica de los juveniles.

2.5 Propiedades bioquímicas de la histidina

La histidina es un aminoácido esencial en peces, cuya relevancia biológica va más allá de su función estructural en la síntesis proteica (Macías-Reyes *et al.*, 2025). Su cadena lateral imidazólica le confiere propiedades químicas únicas, particularmente su capacidad para aceptar y donar protones dentro de un rango fisiológico de pH (Andersen *et al.*, 2016), lo que la convierte en un componente clave en procesos de regulación ácido-base y amortiguamiento metabólico en tejidos altamente activos, como el músculo esquelético (Ogata, 2002).

Una de las funciones bioquímicas más relevantes de la histidina en peces es su participación como precursor en la síntesis de dipéptidos histidínicos, principalmente carnosina y anserina, los cuales se acumulan de manera preferencial en el músculo (Abe, 2000). Estos compuestos desempeñan un papel fundamental en la estabilización del pH intracelular, particularmente durante periodos de alta demanda metabólica (Dolan *et al.*, 2019), como la actividad locomotora característica de especies carnívoras y nadadoras activas, incluyendo las del género *Seriola* (Macías-Reyes *et al.*, 2025).

Además de su función amortiguadora, los dipéptidos derivados de la histidina presentan propiedades antioxidantes, actuando como secuestradores de especies reactivas de oxígeno y contribuyendo a la protección del tejido muscular frente al daño oxidativo (Zs.-Nagy y Floyd, 1984; Wade y Tucker, 1998; Hipkiss *et al.*, 2010; Song *et al.*, 2014). Esta función resulta especialmente relevante en juveniles, etapa en la que el metabolismo aeróbico es elevado y el

músculo se encuentra en constante proceso de crecimiento y remodelación celular. En condiciones de cultivo intensivo, donde los organismos pueden estar expuestos a factores estresantes ambientales y nutricionales, la disponibilidad adecuada de histidina adquiere un papel protector a nivel celular.

Desde el punto de vista metabólico, la histidina también participa en rutas relacionadas con la homeostasis energética y nitrogenada, influyendo indirectamente en la eficiencia de utilización de la proteína dietética. Estudios en diversas especies han mostrado que deficiencias de histidina se asocian con alteraciones en la ganancia proteica, cambios en la composición corporal y reducción de indicadores moleculares de crecimiento, lo que sugiere que su función bioquímica impacta directamente el desempeño productivo del organismo (Li *et al.*, 2014; Zehra y Khan, 2016; Peachey *et al.*, 2018).

Asimismo, la histidina desempeña un papel relevante en el sistema hematológico, ya que forma parte de la estructura de la hemoglobina y contribuye a la capacidad de transporte y liberación de oxígeno (Olson *et al.*, 1988). Una ingesta adecuada de histidina es, por tanto, fundamental para sostener una oxigenación eficiente de los tejidos, particularmente en peces juveniles con altas tasas metabólicas. Alteraciones en el suministro de este aminoácido han sido asociadas con cambios en parámetros hematológicos y en la capacidad de respuesta al estrés fisiológico (Saavedra *et al.*, 2020).

En el contexto de la acuicultura moderna, la importancia bioquímica de la histidina cobra especial relevancia debido al uso creciente de dietas formuladas con bajo contenido de harina de pescado, en las cuales la disponibilidad relativa de este aminoácido puede verse comprometida. Dado que la histidina no puede ser sintetizada de *novo* por los peces, su aporte dietario resulta crítico para sostener las funciones bioquímicas descritas, especialmente durante la etapa juvenil, cuando la demanda metabólica y estructural es elevada (Yamamoto *et al.*, 2019; Macías-Reyes *et al.*, 2025). además, la histidina desempeña un papel como ligando en metaloproteínas y como sitio catalítico en ciertas metaloenzimas como la quimotripsina y superóxido dismutasa (SOD) (Liao, 2013).

En conjunto, las propiedades bioquímicas de la histidina sustentan su consideración como un aminoácido funcional, cuya adecuada inclusión en la dieta puede contribuir no solo al

crecimiento, sino también a la estabilidad fisiológica, la integridad muscular y la capacidad de adaptación al estrés en peces juveniles. Bajo este marco, la evaluación de la suplementación con histidina en juveniles de *Seriola rivoliana* se fundamenta en una base bioquímica sólida, alineada con las exigencias metabólicas propias de esta etapa del desarrollo.

3. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de especies del género *Seriola* representa una alternativa estratégica para diversificar la acuicultura marina y satisfacer la creciente demanda de proteína de alta calidad. Sin embargo, el desarrollo sostenible de estas especies enfrenta limitaciones importantes, particularmente en el ámbito nutricional, donde aún existen vacíos en el conocimiento de sus requerimientos específicos durante etapas críticas del ciclo de vida.

En este contexto, la etapa juvenil de *Seriola rivoliana* constituye un periodo determinante para el éxito productivo, debido a su elevada tasa de crecimiento y alta demanda metabólica. A pesar de su importancia, la formulación de dietas balanceadas en esta fase continúa siendo un desafío, especialmente ante la necesidad de reducir la dependencia de harina de pescado y utilizar ingredientes alternativos más sostenibles, lo que puede comprometer el adecuado suministro de aminoácidos esenciales.

Entre estos, la histidina ha sido reconocida por su papel en procesos fisiológicos clave; no obstante, su función específica en especies de alto metabolismo como *S. rivoliana* y, particularmente, durante la etapa juvenil, aún no ha sido completamente esclarecida. La mayoría de los estudios disponibles se han enfocado en parámetros de crecimiento, dejando de lado su posible influencia en procesos fisiológicos más complejos, como la salud intestinal, la respuesta inmune y la regulación del estrés oxidativo.

En este sentido, resulta necesario generar información que permita comprender el papel funcional de la histidina más allá de su contribución a la síntesis proteica, integrando su efecto en distintos niveles de organización biológica. El presente estudio cobra relevancia al evaluar de manera integral el impacto de la suplementación con histidina en juveniles de *S. rivoliana*, considerando no solo variables productivas, sino también indicadores fisiológicos, intestinales y moleculares.

Por lo tanto, este estudio aporta conocimiento relevante para la optimización de dietas en especies marinas emergentes, y sienta bases para el desarrollo de estrategias nutricionales más eficientes y sostenibles en la acuicultura de *Seriola rivoliana*.

Por lo tanto, este estudio aporta conocimiento relevante para la optimización de dietas en especies marinas emergentes, y sienta bases para el desarrollo de estrategias nutricionales más eficientes y sostenibles en la acuicultura de *Seriola rivoliana*.

4. HIPÓTESIS

Si la histidina contribuye a disminuir el estrés oxidativo y actúa como agente quelante de minerales esenciales, entonces su suplementación en la dieta de juveniles de *Seriola rivoliana* favorecerá una respuesta inmune más estable y una mejor absorción de nutrientes, optimizando el desempeño productivo en sistemas de cultivo intensivo.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la suplementación de histidina en la dieta de juveniles del jurel de *S. rivoliana* como modulador de su estado de condición.

5.2 Objetivos específicos

- a) Evaluar el efecto de la inclusión de diferentes dosis de histidina en la dieta de juveniles de *Seriola rivoliana* sobre su desarrollo.
- b) Analizar los cambios en la morfología intestinal (longitud de vellosidades, abundancia de células caliciformes y cobertura de mucinas) asociados a la suplementación con histidina.
- c) Determinar la actividad de enzimas antioxidantes (CAT, SOD, GPx) como indicadores del efecto de la histidina en la modulación del estrés oxidativo.
- d) Evaluar la expresión de genes relacionados al crecimiento (*actina*, *miosina*, *IGF*).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Redacción de artículo de revisión

Se realizó una revisión exhaustiva de artículos relacionados con el tópico “uso de la histidina como suplemento para mejorar el desempeño reproductivo en peces”. Se generó una base de datos con: nombre del artículo, autor, año, tipo de publicación (revisión o experimentación), especies estudiadas, procedencia del organismo y enfoque de la investigación. Se analizó la abundancia de artículos para especies marinas, qué especies y qué enfoques sobre la histidina han sido más estudiados, con el fin de determinar el objetivo, el título del artículo de revisión y los apartados a desarrollar.

Habiendo determinado los apartados, se procedió a analizar el contenido de artículos relacionados con cada apartado, construyendo tablas comparativas entre especies sobre la abundancia de histidina en diferentes tejidos u órganos: músculo, gónadas, sangre y gametos de reproductores. Esta abundancia se contrastó con la evolución de las etapas del periodo reproductivo, así como en etapas sucesivas del desarrollo de la progenie: huevo, larva y juveniles. Una vez observadas las fluctuaciones de histidina en los tejidos a lo largo del periodo reproductivo, se elaboró un apartado que analiza artículos donde fue evaluada la adición de diferentes dosis de histidina en reproductores y su efecto en la progenie, y otro apartado con artículos donde fue adicionada histidina en la dieta de juveniles y sus efectos. Para finalizar, se discutieron los resultados observados en los estudios.

6.2 Obtención de los organismos para el bioensayo

Los organismos utilizados en el presente estudio fueron juveniles obtenidos a partir de huevos provenientes de desoves espontáneos de reproductores mantenidos en cautiverio en las instalaciones del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), pertenecientes a la empresa Kampachi Farms y Omega Azul, ubicadas en La Paz, Baja California Sur, México.

Los juveniles fueron cultivados en los estanques de engorda de la empresa Kampachi Farms y Omega Azul, localizados en la Unidad Pichilingue de la Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS), hasta alcanzar un peso promedio de 5 g a los dos meses y una semana post-eclosión. Para la realización del experimento, la empresa Kampachi Farms y Omega Azul donó un total de 630 organismos. Posteriormente, los peces fueron trasladados a las instalaciones del CIBNOR,

donde permanecieron bajo condiciones controladas y fueron alimentados con una dieta comercial para peces marinos (GEMMA Silk, 1.0 mm, Skretting®) durante un periodo de aclimatación de un mes previo al inicio del ensayo experimental.

6.3 Elaboración de las dietas experimentales

La dieta basal consistió en alimento comercial se establecieron tres tratamientos: control (sin adición de histidina), S1 (2% de L-Histidina HCl, marca MERCK®) y S2 (3% de L-Histidina HCl).

Se prepararon dos dietas experimentales con L-Histidina HCL, donde pellets comerciales (Aquatec PM 49/15 marca Nutec®) se molieron hasta la obtención de harina en un molino de carne modelo M-12-FS (marca TORREY, Monterrey, Nuevo León, México). Una vez obtenida la harina, se pesó la cantidad del aminoácido correspondiente a cada tratamiento y se disolvió en 1 L de agua purificada mediante agitación en una parrilla de agitación magnética modelo LMS-1003 de la marca LabTech, Sorisole, Italia. En una mezcladora modelo ARM-20 marca Thunderbird, Dallas, Texas, EE. UU se mezcló la harina de pellet con la solución de L-Histidina HCL y se adicionó agua purificada a razón de 416 ml por cada kg de harina. La mezcla se extruyó en el mismo molino de carne con un disco de acero inoxidable #32 con orificios de 3 mm de diámetro marca Stainless, posteriormente se empleó un disco de 5 mm de diámetro, según necesidad del pez (Tabla 1). Los extruidos obtenidos se secaron en un horno de convección marca VWR a una temperatura de 30°C por 12 horas. Una vez secos los extruidos fueron fraccionados manualmente y tamizados por tamices de 1.7, 2.8 y 3.35 mm, obteniéndose 4 tamaños de pellet (Tabla 1).

Tabla 1. Dimensiones de pellet en la evolución del cultivo.

Día de cultivo	Tamaño de pellet	Diámetro (mm)	Longitud (mm)
1	1	3	2.8
10	1	3	2.8
13	2	3	4
26	2	3	4
28	2	3	4
32	2	3	4
42	3	5	4
43	4	5	8
55	4	5	8

Se realizó un análisis químico proximal de los alimentos. El porcentaje de humedad se determinó por pérdida de peso tras someter el alimento a 105°C en un horno Terlab durante 4 horas. El

porcentaje de ceniza se determinó por incineración en mufla a 600°C durante 5 h. El porcentaje de proteína se determinó por el método de Dumas en un equipo LECO FP528. El porcentaje de lípidos se determinó por el método de Soxtec en un equipo Soxtec Avanti 2050. El porcentaje de fibra cruda se determinó por digestión ácido-alcalina en un equipo Fibertec 2010. El perfil de aminoácidos fue determinado por HPLC. La composición de histidina y porcentajes de macronutrientes de las dietas se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Composición proximal y de histidina (% base seca) de dietas experimentales. Los datos fueron analizados mediante ANOVA de una vía a un $\alpha = 0.05$. Letras iguales indican ausencia de diferencias significativas entre tratamientos.

Análisis	Tratamientos		
	Control	S1	S2
Proteína	50.1±0.02 _a	49.8±0.03 _a	49.9±0.03 _a
Lípidos	15.1±0.12 _a	14.8±0.12 _a	15.5±0.10 _a
Fibra	15.4±0.05 _a	15.4±0.05 _a	15.4±0.07 _a
Cenizas	9.5±0.45 _a	9.5±0.53 _a	9.5±0.3 _a
ELN	9.9	10.5	9.7

Tabla 3. Aminoácidos esenciales y no esenciales en la dieta (% peso seco).

Aminoácido	Tratamientos		
	Control	S1	S2
Histidina	1.335	2.034	2.810
Ácido glutámico	3.526	3.571	4.007
Ácido aspártico	3.831	3.897	3.948
Serina	1.717	1.723	1.747
Glicina	1.669	1.397	1.719
Treonina	2.158	2.104	2.196
Alanina	1.930	1.916	1.927
Arginina	2.186	2.048	2.246
Tirosina	1.747	1.586	1.538
Valina	2.058	1.852	1.943
Fenilalanina	1.978	1.863	1.833
Isoleucina	1.995	1.792	1.871
Leucina	2.810	2.526	2.678
Lisina	3.667	3.664	3.619
Prolina	3.027	2.787	2.796

6.4 Diseño experimental del bioensayo

El sistema constó de 9 unidades experimentales cilíndricas con capacidad de 3000 L, el cual fue llenado al 80% con agua de mar a 37 ups, con un flujo continuo de 3.6 L•minuto⁻¹. Cada tanque fue provisto de 4 piedras de difusión de aire manteniendo una oxigenación de 7.5 mg•L⁻¹, se mantuvo a una temperatura de 24°C, con 10 horas de fotoperiodo mediante luces LED. En las unidades se colocaron 70 juveniles con un peso promedio de 23±3 g, resultando en una densidad de siembra de 0.53 kg•m³. Los organismos fueron obtenidos por donación de la empresa KING KAMPACHI® ubicada en La Paz, Baja California Sur para la presente evaluación.

6.5 Manejo de organismos

El porcentaje de alimentación fue el 5% sobre la biomasa de cada estanque y se realizó manualmente 4 veces al día a las 8, 12, 15 y 18 horas del día, el tamaño de pellet inicio en un diámetro de 3 mm y longitud de 2.8 mm y varió conforme el desarrollo de los organismos (Tabla 1). Se realizó el sifoneo de tanques 2 veces al día a las 8:00 y 16:00 horas.

6.6 Muestreos

A las 8 horas de los días de cultivo 0, 16, 32, 46 y 55 se procedió a extraer 20 peces de cada tratamiento los cuales fueron transferidos a un reservorio con 60 L de agua de mar filtrada, desinfectada y acondicionada con aceite de eugenol (1:10,000 v/v marca Sigma-Aldrich) para anestesiarnos y registrar su peso y longitud total, medida desde el extremo más adelantado de la boca hasta la punta extrema de la aleta caudal (cola). diez de los veinte organismos extraídos regresaron a su unidad experimental correspondiente y 10 organismos fueron diseccionados para almacenamiento de muestras para estudios posteriores. De 5 organismo se obtuvo el intestino e hígado y se almacenaron en solución Davidson a temperatura ambiente para análisis histológico. De los cinco organismos restantes se almacenaron los fragmentos de hígado, intestino y músculo en RNA later (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EE.UU.) para los análisis genómicos. Los fragmentos de hígado fueron almacenados en tubos cónicos de 2 ml para determinación de enzimas y una porción muscular. a excepción de las muestras en solución Davidson, las muestras se almacenaron en ultracongelación (-80°C) hasta su uso.

6.7 Índices biométricos

Mediante los datos obtenidos de peso, longitud total, cantidad de alimento suministrado y supervivencia se calculó la ganancia en peso, tasa de crecimiento específico, factor de conversión alimenticia, supervivencia y biomasa final con las fórmulas descritas por Yamamoto (2019): (Yamamoto et al., 2019).

$$\text{Índice de Futón (K)} = \frac{\text{Peso}}{\text{longitud}^3} \times 100 \quad (1)$$

$$Tasa\ de\ Crecimiento\ Específica\ (TCE) = 100 * \frac{\ln(Peso\ final) - \ln(Peso\ inicial)}{Dias\ de\ cultivo} \quad (2)$$

$$Índice\ de\ Conversión\ Alimenticia\ (ICA) = \frac{Ganancia\ en\ peso\ húmedo}{íngesta\ de\ alimento\ seco} \quad (3)$$

6.8 Actividad enzimática

6.8.1 Preparación de extractos

De cada uno de los tanques de cultivo en cada tiempo de muestreo, se realizaron extractos según la siguiente metodología. En un microtubo de 2 ml se colocaron fragmentos de 5 hígados, obteniendo aproximadamente en 300 mg aproximadamente. Se adicionó 300 µL de solución amortiguadora Tris-HCl pH 7.4 y 10 perlas de vidrio. Posteriormente se realizó una homogeneización de tejido en un disruptor marca FastPrep por 40 s a una velocidad de 6 m/s.

Con una pipeta se recuperó el líquido y se transfirió a un nuevo tubo de 2 ml. El líquido obtenido se centrifugó por 15 minutos a 12,000 rpm a 4°C. Se recuperó la fase media y se transfirió a un nuevo tubo. A partir de la solución recuperada se preparó una alícuota diluida 1:20 y se almacenó a -20°C como stock de trabajo. La muestra pura se almacenó a -80°C como reserva.

6.8.2 Actividad superóxido dismutasa.

La actividad de la enzima SOD se determinó mediante un método espectrofotométrico basado en la inhibición de la reducción del citocromo c por el radical superóxido generado en un sistema xantina–xantina oxidasa, de acuerdo con el método descrito por McCords y Fridovich (1969), con modificaciones.

El principio del método se basa en la generación de radical superóxido (O_2^-) mediante la oxidación de xantina catalizada por la xantina oxidasa. Este radical reduce el citocromo c, lo cual es monitoreado espectrofotométricamente a 550 nm. La presencia de SOD compite por el radical superóxido, disminuyendo la velocidad de reducción del citocromo c, lo que permite cuantificar su actividad.

Para la determinación, se preparó una mezcla de reacción (*cocktail*) compuesta por buffer fosfato (0.216 M, pH 7.8), EDTA (10.7 mM), citocromo c (1.1 mM) y xantina (0.108 mM). La reacción se llevó a cabo en cubetas de cuarzo de 1 cm de paso de luz y un volumen final de 3 mL, a 25 °C.

Inicialmente, se midió la velocidad de reacción del sistema sin muestra (control), adicionando xantina oxidasa y registrando el cambio de absorbancia a 550 nm ($\Delta A/\text{min}$). Posteriormente, se evaluaron las muestras mediante la adición del extracto biológico al sistema de reacción, seguido de la incorporación de xantina oxidasa, registrando nuevamente la variación de absorbancia.

La actividad de SOD se expresó como el porcentaje de inhibición de la reducción del citocromo c, considerando que una unidad de SOD corresponde a la cantidad de enzima capaz de inhibir en un 50% la velocidad de reacción del sistema.

6.8.3 Peroxidasa

El contenido total de peroxidasa se midió según Salinas *et al.* (2008). A 10 ml de buffer citrato-fosfato pH5 (compuesto por 0.2 M de fosfato dibásico, 0.1 M de ácido cítrico y agua desionizada) se agregó 2.5 μL de peróxido de hidrógeno al 30% y una pastilla de TMB (tetrametilbencidina) (Sigma-Aldrich, S5814, St. Louis, USA) agitando en la oscuridad hasta que la pastilla se disolvió completamente.

En una placa de 96 pozos se colocó 20 μL de muestra por triplicado y 100 μL de buffer citrato-fosfato. Una vez que la reacción se oxidó y como indicador viró a color azul, la reacción se detuvo con 50 μL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 40 mmol.

La placa se colocó en un espectrofotómetro Varioskan Flash (Thermo Scientific Varioskan™, Thermo Fisher Scientific, Inc., MA, USA) a 450 nm y se registró el punto final.

$$\frac{\text{Unidades}}{\text{ml}} = \text{Abs} * \text{ml de mezcla de reacción} \quad (4)$$

$$\text{GPx} \left(\frac{\text{U}}{\text{mg}} \right) = \frac{\text{U/ml}}{\text{mg/ml de proteína}} \quad (5)$$

6.8.4 Catalasa

La actividad CAT se realizó por la técnica descrita por Johansson y Borg (1988) basado en la formación de formaldehído a partir de metanol, detectado por purpald. En una microplaca de 96 pozos se adicionó 20 µL de extracto, 100 µL de buffer de Fosfato-Potasio 100 mM (pH7), 30 µL de metanol y 20 µL de peróxido de hidrógeno diluido. La placa se tapó por 20 minutos en agitación; 120 rpm a temperatura ambiente. Posterior a este tiempo se adicionó 30 µL de Hidróxido de Potasio 10 M, para detener la reacción y 30 µL de Purpald 46 mM (en HCl 0.5 M).

La placa se tapó e incubó por 10 minutos en agitación a 120 rpm a temperatura ambiente. Por último, se adicionaron 10 µL de periodato de potasio 197 mM. La placa se incubó por 5 minutos en agitación a 120 rpm a temperatura ambiente y leyó su absorbancia 540 nm.

6.9 Cuantificación de la expresión de genes

La cuantificación de expresión genética se realizó mediante la metodología descrita por Mazón-Suástegui *et al.* (2018). Cada tubo de 2 mL contenía un pool de intestinos o músculo provenientes de cinco organismos. A partir de estos tubos se aisló el ácido ribonucleico (ARN) total. Para la extracción del ARN total, se utilizó el reactivo de aislamiento de ARN TRIzol (Thermo Fisher Scientific) y un homogeneizador de tejidos (FastPrep-24 5G, M.P. Biomedicals) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Posteriormente, se realizó un tratamiento de DNasa con kit de DNasa RQ1 RNase-Free (Promega). La concentración y pureza del ARN se determinaron con NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham) y la calidad del ARN se observó en gel de agarosa (1,5%) con Sybr Safe DNA Gel Stain (Invitrogen). Por último, se utilizó el kit Improm II (Promega) para la síntesis de ADNc siguiendo las instrucciones del fabricante. La reacción se realizó con 2 µg de ARN total en termociclador iCycler (Bio-Rad). Los cebadores utilizados para *IL-1β*, *IL-10*, IGF, *Miosina* y *actina*, fueron específicos para *S. rivoliana*, se obtuvieron de la base de datos del Banco de Germoplasma. La qPCR se realizó utilizando un termociclador Bio-Rad CFX 96 (BioRad Laboratories, Inc.). Para analizar la expresión de los genes, se tomó *18s* como gen de referencia. Se utilizó una curva estándar para elegir la dilución de trabajo de acuerdo con la mayor eficiencia (% E). El ensayo de qPCR se realizó por triplicado para cada muestra, tomando un volumen total de 10 µL que contenía 2 µL de ADNc, cebadores de 0,20 µL (50 µM), 5 µL de SsoFast EvaGreen

Supermix (BioRad Laboratories) y 2,8 µL de agua estéril. Se incluyó un control negativo para cada uno de los conjuntos de reacción en cada placa (placa de 96 pocillos). Las reacciones se incubaron utilizando las siguientes condiciones: un ciclo a 95°C durante 10 minutos; 40 ciclos a 95°C durante 15 segundos; 60°C durante 30 segundos. Para realizar el análisis, se tuvo en cuenta la expresión relativa normalizada a cero.

6.10 Histología

Previo a la tinción las muestras se deshidrataron colocándolas una hora en cada uno de los siguientes alcoholes; alcohol etílico a 70°, 80°, 90°, 96° y 100°. Posteriormente se transfirió a una mezcla de alcohol etílico 100°-xilol (1:1) Por 20 minutos y por último 10 minutos en xilol absoluto. Una vez deshidratadas las muestras se incluyeron en parafina.

Para realizar la tinción de hematoxilina-eosina se empleó la técnica descrita por Humason (1997) descrita en la tabla 3 y para la tinción de azul alcian PAS para polisacáridos la técnica descrita por Sheehan y Hrapchak (1980) descrita en la tabla 4.

Tabla 4. Técnica de Hematoxilina Eosina de Harris (Humason, 1997).

Reactivo	Tiempo
Xilol I, II y III	10 minutos en cada uno
Alcohol 96%	2 minutos
Alcohol 70%-I y alcohol 70%-II	2 minutos cada uno
H ₂ O	5 minutos
Hematoxilina de Harris	1 minuto
H ₂ O -I y II	5 minutos
Alcohol ácido	10-15 segundos
H ₂ O	5 minutos
H ₂ O amoniacal	10-15 segundos
H ₂ O	5 minutos
Alcohol 50%	2 minutos
Alcohol 70%	2 minutos
Eosina azulosa alcohólica	3 minutos
Alcohol 96% I y II	1-2 minutos cada uno
Alcohol 100% I y II	1 minuto cada uno
XILOL I, II y III	5 minutos cada uno
Montar en resina sintética o Entellan	

Tabla 5. Técnica de tinción Azul alcian-Schiff.

Reactivo	Tiempo
Xilol I, II y III	10 minutos en cada uno
Alcohol 96%	2 minutos
Alcohol 70%-I y alcohol 70%-II	2 minutos cada uno
H ₂ O	5 minutos
Azul alcian	3 minutos
H ₂ O	2 minutos
Ácido peryódico 0.5%	10 minutos
H ₂ O	5 minutos
Reactivo de Schriff	10 minutos
Solución sulfurosa I, II y II	2 minutos cada una
H ₂ O	5 minutos
Hematoxilina férrica de Weigert	5 minutos
H ₂ O	2 minutos
Ácido pícrico	1 minuto
Alcohol 96%	5 minutos
Alcohol 100%	5 minutos
Xilol	5 minutos
Montar en resina sintética o Entellan	

6.11 Análisis estadísticos

Se evaluó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Bartlett. Posteriormente, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de una y dos vías, seguidos de la prueba post hoc de Tukey para la comparación de medias. Todos los análisis estadísticos se efectuaron utilizando el programa STATISTICA.

7. RESULTADOS

7.1 Índices biométricos

Mediante un análisis de varianza de los pesos de los organismos entre tratamientos a lo largo del tiempo de cultivo, se observó que no existe diferencia significativa ($p= 0.5101$) ante la inclusión de histidina en cada uno de los días de muestreo (Fig. 4). En el día de cultivo 55, se presentó un mayor peso en el tratamiento S1 en contraste de S2 y control, sin ser diferentes estadísticamente (Fig. 4).

A diferencia del peso de los organismos, en la longitud fina del día 55 de cultivo, si se encontraron diferencias significativas ($p=0.0101$). La mayor longitud se registró en los juveniles del tratamiento S2 y menor en aquellos alimentados con la dieta control (Fig. 5).

La Tabla 5 presenta el rendimiento de crecimiento de los organismos alimentados con distintas dietas de prueba (Control, S1 y S2), evaluando parámetros productivos y zootécnicos. En cuanto a los parámetros tasa de crecimiento específica, factor de conversión alimenticia (TCE y FCA) e índice K, se observó que fueron iguales entre tratamientos ($p>0.05$).

El porcentaje de supervivencia final se vio influenciado por el nivel de histidina en las dietas, resultando mayor en los organismos del tratamiento S2 del mismo modo se observó una mayor biomasa final en este tratamiento.

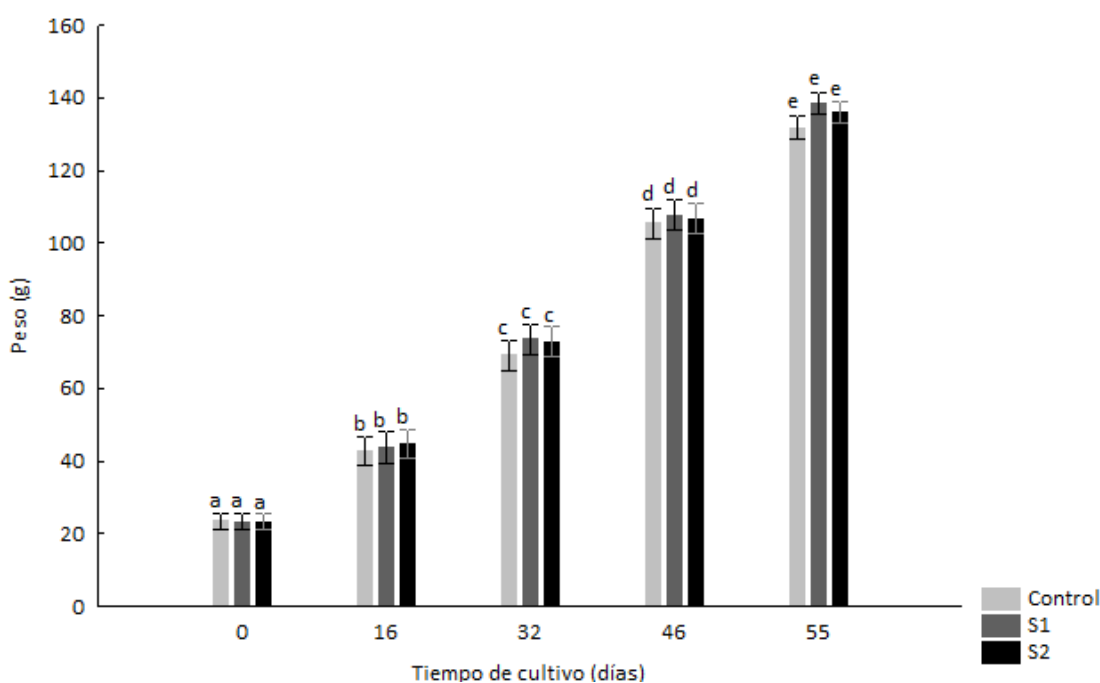


Figura 4. Análisis de varianza de peso según tiempo de cultivo y tratamiento.

Los valores son medias (n por día de cultivo = 60). Los valores con la misma letra superíndice no son significativamente diferentes a un $\alpha = 0.05$. ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

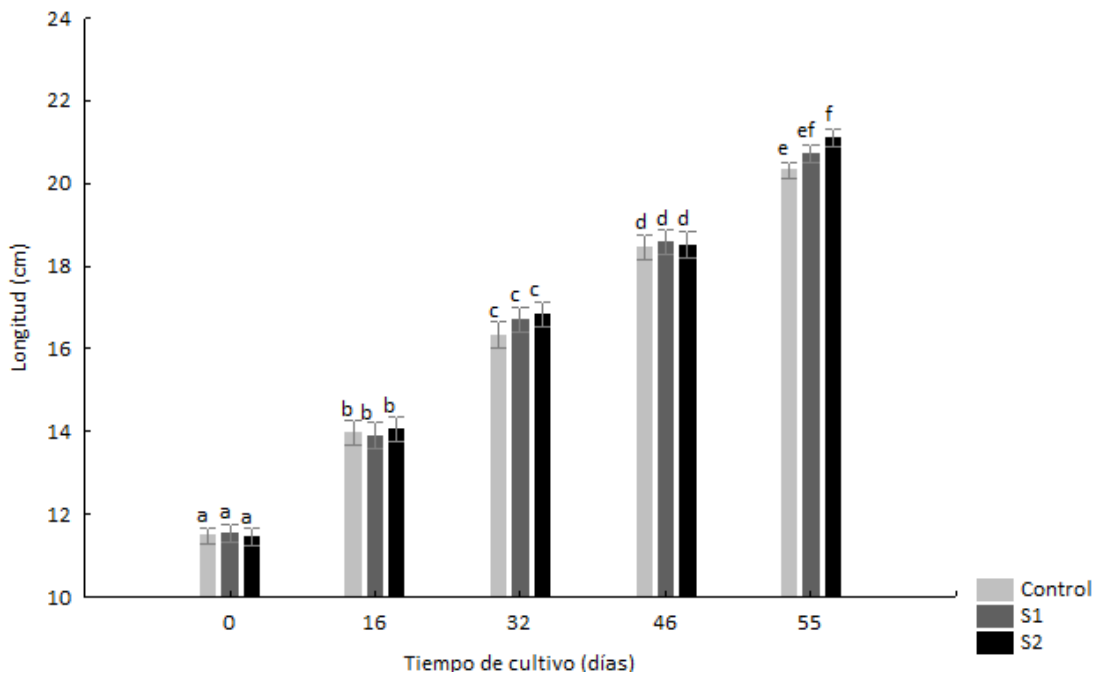


Figura 5. Análisis de varianza de longitud según tiempo de cultivo y tratamiento.

Los valores son medias (n por día de cultivo = 60). Los valores con la misma letra superíndice no son significativamente diferentes a un $\alpha = 0.05$. ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

Tabla 6. Rendimiento final de crecimiento de los organismos alimentados con las dietas de prueba

Tratamiento	Supervivencia (%)	Peso final (g)	Longitud final (cm)	Biomasa final (g)	Índice <i>K</i>	TCE (% BW/días)	REA
Control	90±4.33 _b	133.14±6.3 _a	20.32±0.15 _b	4,786.6±107 _b	1.58 _a	3.15±0.09 _a	0.71±0.04 _a
S1	90±0 _b	140.71±9.03 _a	20.72±0.13 _{ab}	5,065.6±325 _{ab}	1.58 _a	3.26±0.10 _a	0.85±0.10 _a
S2	98.33±1.44 _a	135.77±2.07 _a	21.09±0.13 _a	5,385.4±102 _a	1.44 _a	3.20±0.02 _a	0.77±0.09 _a
n	334	180	180	334	180	180	180

Los valores son medias (n = 20). Los valores con la misma letra superíndice dentro de la misma columna no son significativamente diferentes ($P > 0.05$) ANOVA unidireccional; Tukey's; $P < 0.05$).

Ganancia (%) = $100 \times (\text{peso corporal final} - \text{peso corporal inicial}) / \text{peso corporal inicial}$

TCE (tasa de crecimiento específica, % de peso corporal por día) = $100 \times [\ln(\text{peso corporal final}) - \ln(\text{peso corporal inicial})] / \text{días}$

REA (relación de eficiencia de alimentación) = ganancia de peso húmedo/ingesta de alimento seco

Índice de Futón (K) = $\text{Peso} / (\text{Longitud}^3) \times 100$

7.2 Morfología Intestinal

El análisis histológico reveló que la suplementación dietética con histidina tuvo un efecto notable en la morfología de las vellosidades intestinales. La longitud de las vellosidades varió significativamente entre tratamientos ($p < 0.05$), siendo el grupo S1 el que mostró las vellosidades de mayor longitud ($864.61 \pm 61 \mu\text{m}$), mientras que los peces del grupo S2 mostraron las menores ($626.77 \pm 49.36 \mu\text{m}$). El grupo de control presentó valores intermedios de longitud de vellosidades ($712.78 \pm 84.86 \mu\text{m}$), que no diferían significativamente de los de S2 (Fig. 6A, Fig. 7).

Mediante la tinción de hematoxilina eosina se cuantificó el área de cobertura de células calciformes, no encontrándose diferencia entre tratamientos ($p > 0.05$, Fig. 6B).

En contraste, el área de cobertura de mucinas cuantificadas mediante la tinción de azul alcian-PAS, mostró un incremento progresivo con la suplementación dietética con histidina. Este incremento fue significativamente mayor en el grupo S2 en comparación con el grupo Control y S1 ($p < 0.05$, Fig. 6B). Las imágenes correspondientes a los cortes histológicos muestran una mayor intensidad en la tinción azul de mucina en el epitelio intestinal de los peces del grupo S2 en comparación con los tratamientos Control y S1 (Fig. 8).

El análisis histológico del intestino anterior mostró diferencias claras en el grosor de la pared intestinal entre los tratamientos evaluados. En el grupo control (Fig. 9A) se registró un grosor promedio de $196.03 \pm 13.36 \mu\text{m}$, mientras que en los tratamientos suplementados con histidina se observaron valores menores: $152.59 \pm 4.32 \mu\text{m}$ en S1 (Fig. 9B) y $146.55 \pm 5.26 \mu\text{m}$ en S2 (Fig. 9C).

La comparación estadística mediante ANOVA de una vía seguida de la prueba de Tukey indicó diferencias significativas entre tratamientos ($p = 0.0059$, $\alpha = 0.05$). El grupo control presentó el mayor grosor intestinal, mientras que los tratamientos S1 y S2 reflejaron valores significativamente más bajos.

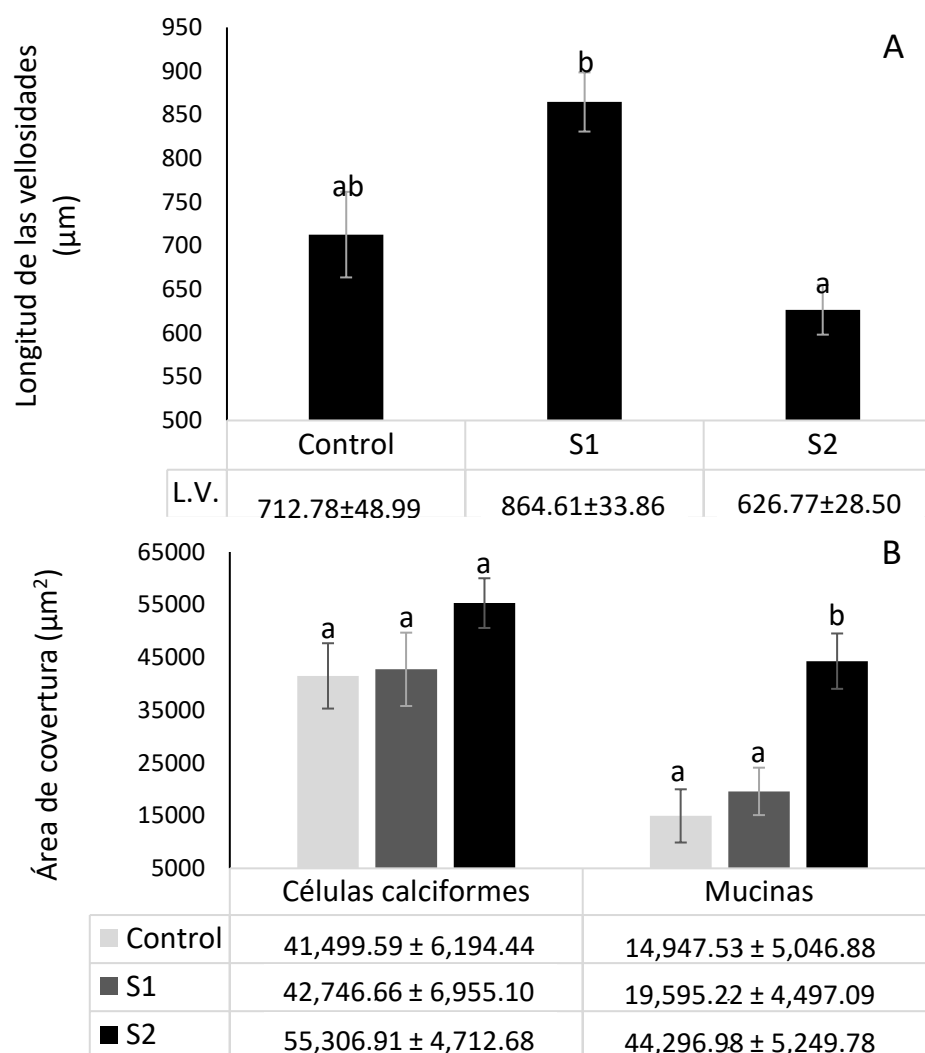


Figura 6. Evaluación histomorfométrica de longitud de vellosidades intestinales (A) y cobertura de células calciformes y cobertura de mucinas en respuesta a tratamientos (B). ANOVA individual unidireccional por parámetro, $\alpha = 0.05$.

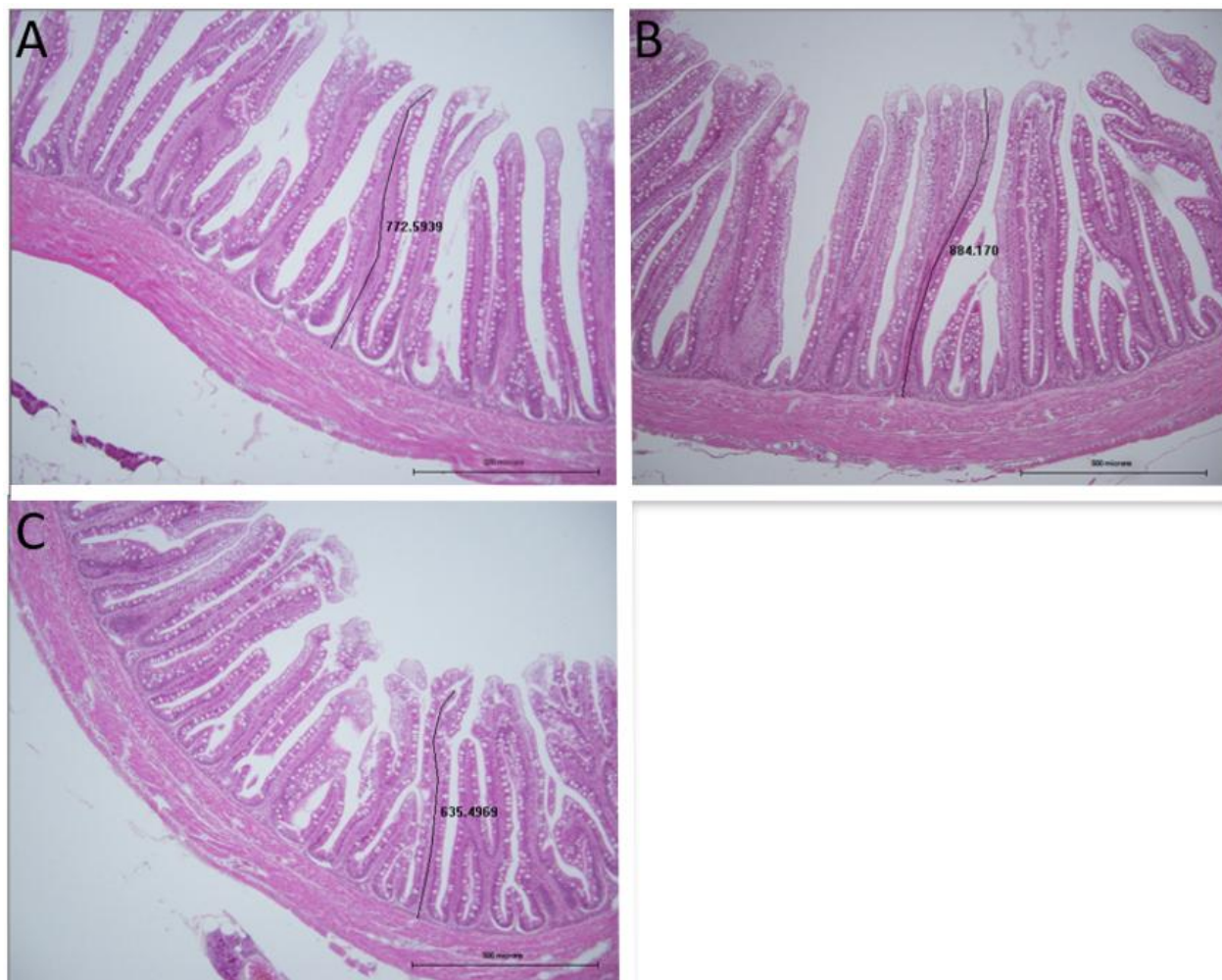


Figura 7. Secciones histológicas del tejido intestinal teñidas con hematoxilina y eosina (H&E). En las imágenes se señalan ejemplos de la longitud de las vellosidades intestinales correspondientes a los tres tratamientos: control (A), S1 (B) y S2 (C). Estas mediciones ilustran valores cercanos al promedio de cada grupo, mostrando que las vellosidades más largas se observaron en el tratamiento S1, seguidas por las del control, mientras que las más cortas correspondieron al tratamiento S2.

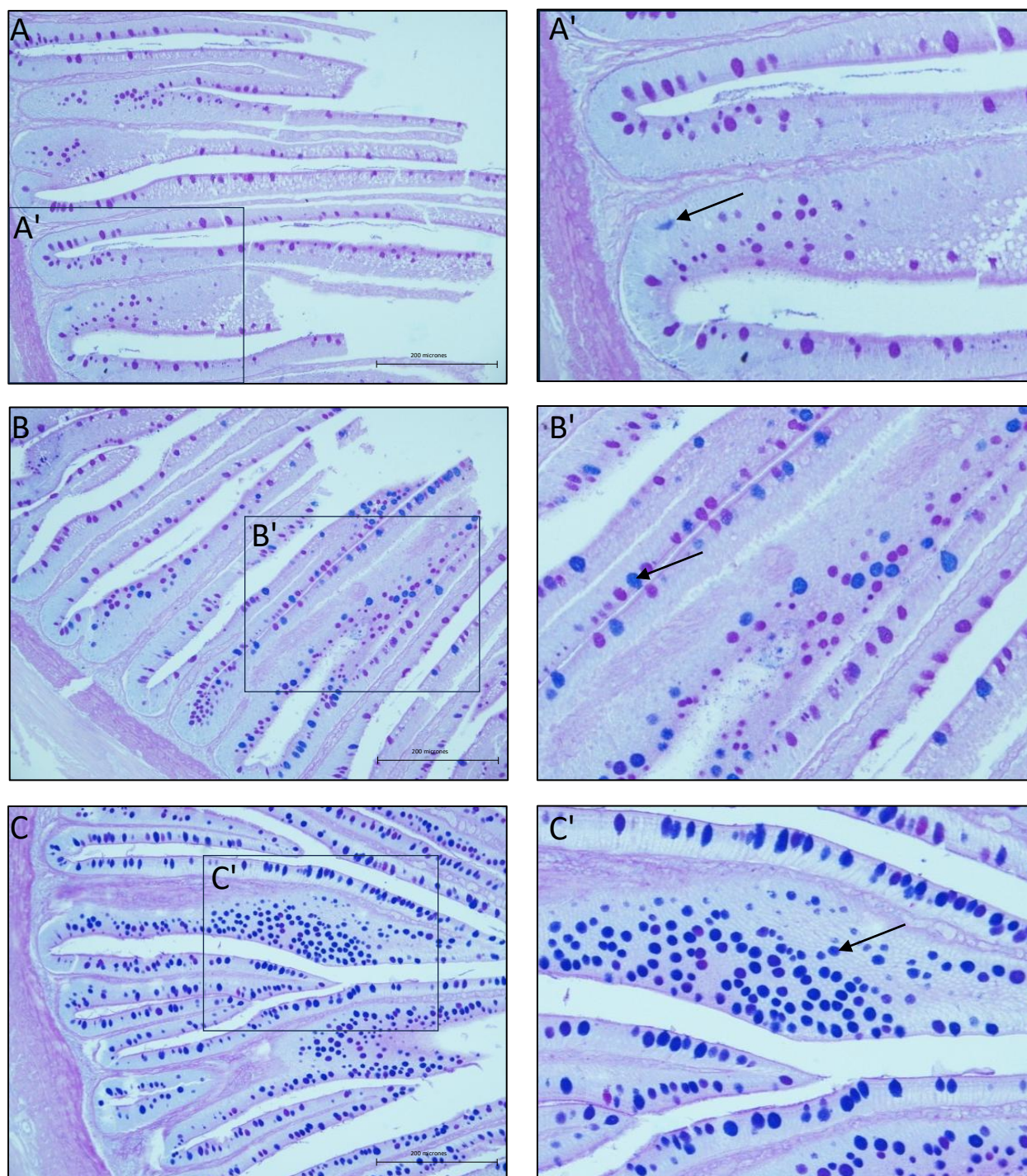


Figura 8. Aumento progresivo en la zona cubierta de mucina con aumento del porcentaje de histidina: control (A, A'), S1 (B, B') y mayor área en S2 (C, C'). Mucinas teñidas de azul indicadas por flechas.

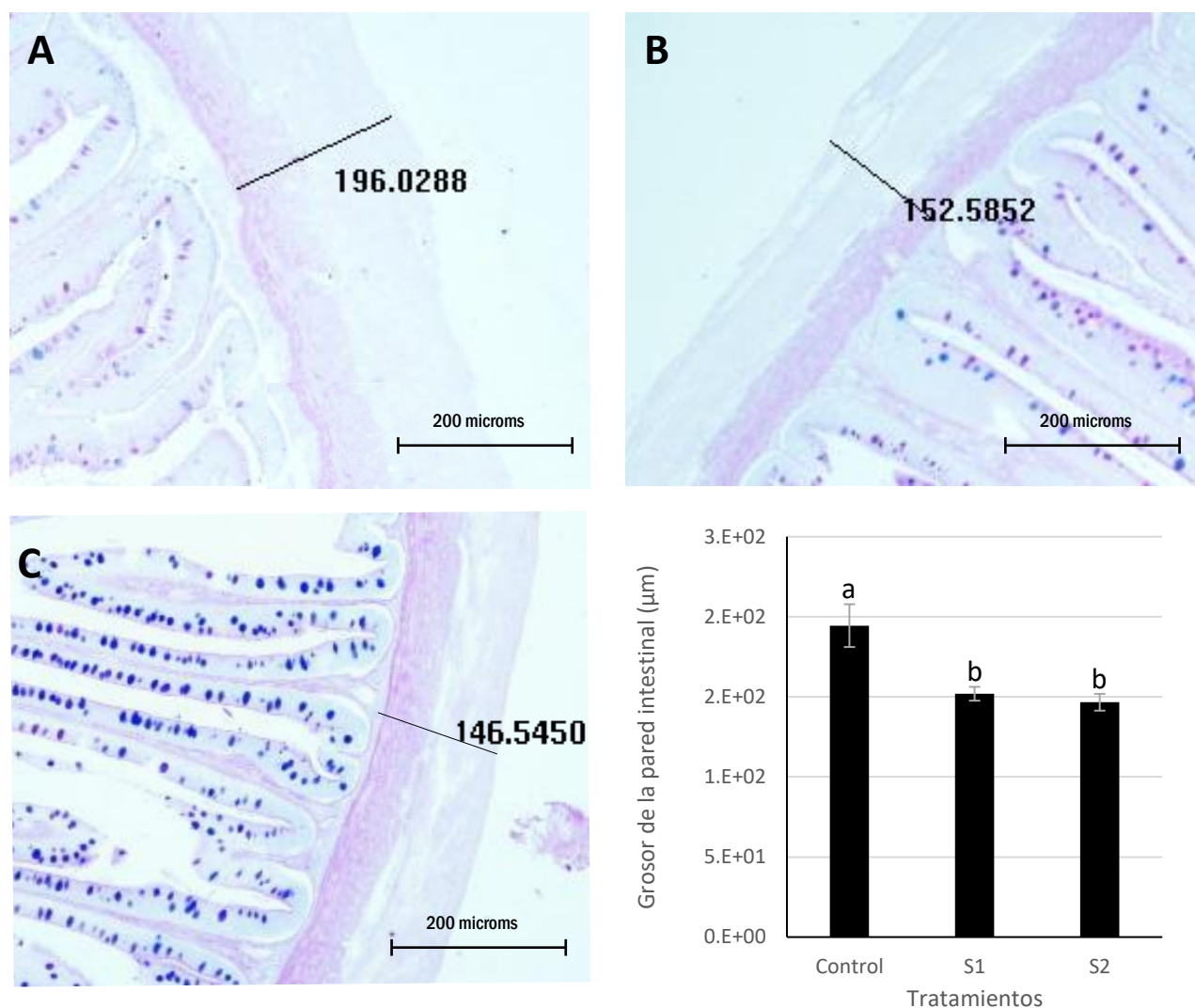


Figura 9. Grosor de la pared del intestino anterior en los diferentes tratamientos experimentales. Control (A), tratamiento S1 (B) y tratamiento S2 (C). En gráfico se muestra la media $\pm$ error estándar ($n = 90$ peces). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA de una vía, prueba de Tukey, $p = 0.0059$, $\alpha = 0.05$)

7.3 Actividad enzimática

Al evaluar el impacto de la suplementación con histidina sobre la actividad antioxidante a través de las enzimas CAT, GPx y SOD en el hígado de los grupos experimentales, los resultados revelaron una menor actividad de la enzima CAT en el grupo S1, en comparación tanto con el grupo control como con el grupo S2 ($p < 0.05$, Fig. 10). El grupo S2 y el control tuvieron la misma actividad, observándose un patrón en forma de U.

También se presentó la misma distribución en “U” en la actividad peroxidasa, sin ser diferentes estadísticamente.

En cuanto a la actividad de la SOD, aunque no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales, se observó una ligera tendencia a la baja a medida que aumentaba la concentración de histidina. Los valores de actividad de la enzima SOD fueron ligeramente menores en los tratamientos S1 y S2 en comparación con el control, sin embargo, la superposición de barras de error y la asignación uniforme de agrupaciones estadísticas indican que estas diferencias no alcanzaron el umbral de significación bajo las condiciones analizadas. Se realizó una ANOVA unidireccional individual para cada enzima ($p < 0,05$). Los datos se expresan como valores medios. Las barras verticales representan $\pm$ errores estándar. Diferentes letras minúsculas indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

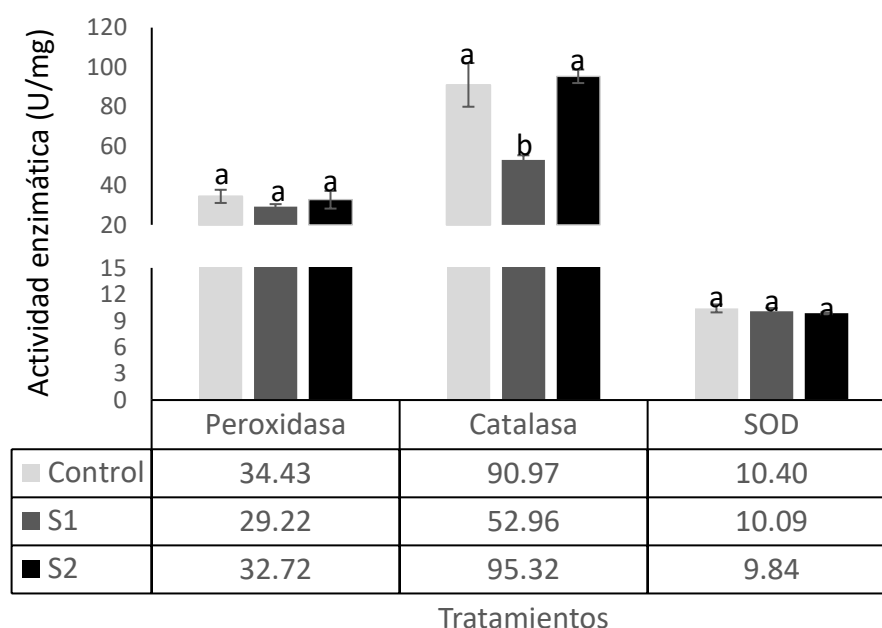


Figura 10. Actividad enzimática (U/mg) en respuesta a tratamientos.

7.4 Morfología hepática

Las microfotografías del tejido hepático de juveniles de *Seriola rivoliana* muestran diferencias en la acumulación de vacuolas lipídicas entre los tratamientos evaluados (A: Control, B: S1, C: S2). En general, el hígado presentó la arquitectura típica de peces teleósteos, caracterizada por hepatocitos poligonales con citoplasma vacuolado, asociado principalmente al almacenamiento de lípidos.

En el tratamiento control (Fig. 11A), se observa una distribución moderada de vacuolas lipídicas en el citoplasma de los hepatocitos. En contraste, el tratamiento S1 (Fig. 11B) presenta una mayor acumulación de vacuolas, evidenciando un incremento en la cobertura de adipocitos o inclusiones lipídicas, lo que sugiere una mayor deposición de lípidos en el tejido hepático.

Por otro lado, el tratamiento S2 (Fig. 11C) muestra una menor cantidad de vacuolas en comparación con S1, e incluso ligeramente inferior al control, indicando una posible reducción en la acumulación lipídica hepática a niveles más altos de suplementación de histidina.

El análisis cuantitativo de la cobertura de adipocitos (%) respalda estas observaciones. El tratamiento S1 presentó los valores más altos, alcanzando $35.43 \pm 3.04\%$, seguido del control con valores $27.64 \pm 1.78\%$, mientras que el tratamiento S2 mostró los valores más bajos, $24.90 \pm 2.30\%$. Estas diferencias sugieren un efecto dependiente de la dosis de histidina sobre el metabolismo lipídico hepático.

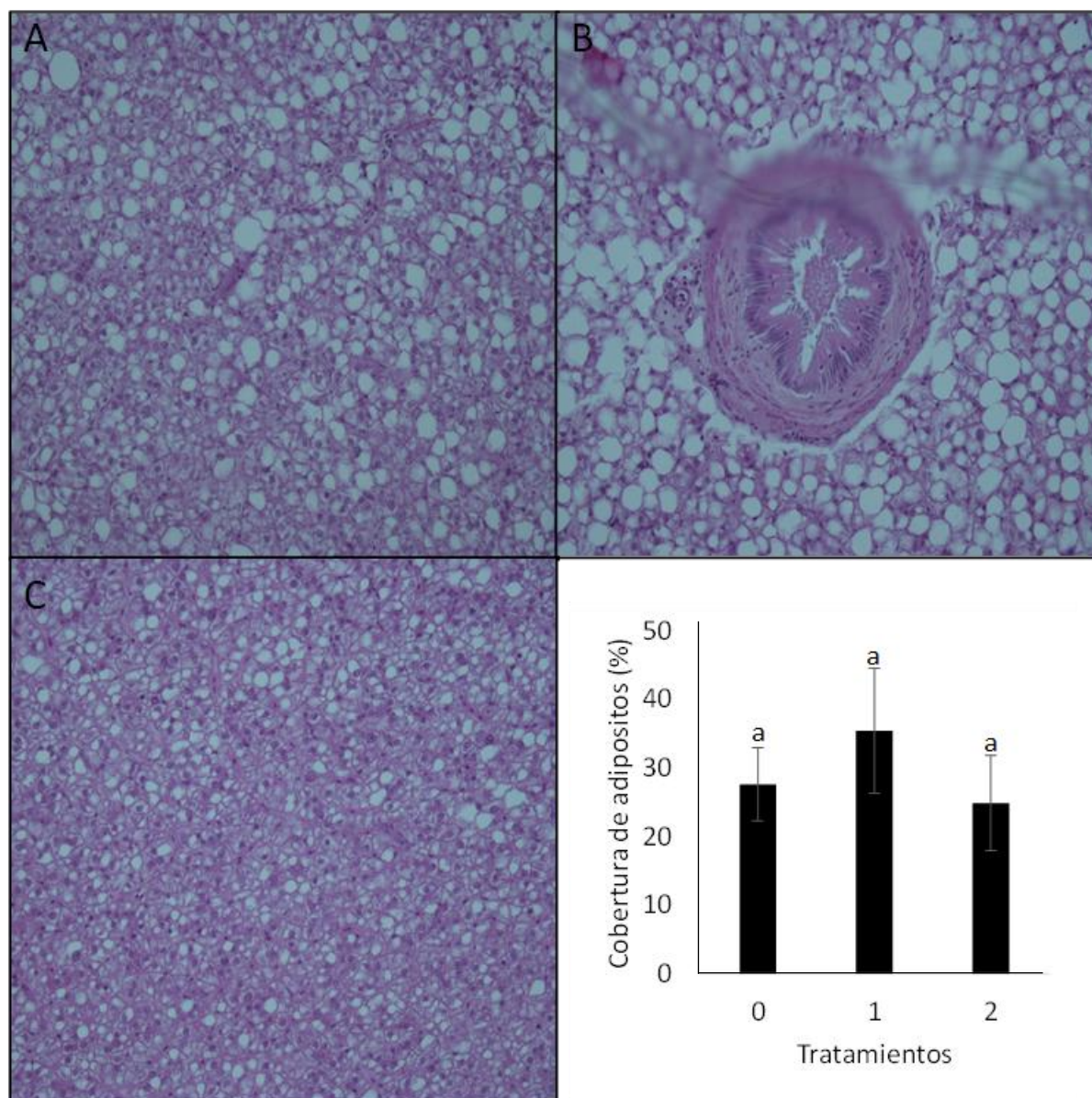


Figura 11. Evaluación histológica del hígado y porcentaje de cobertura lipídica en juveniles de *Seriola rivoliana* en el tratamiento control (A), tratamiento S1 (B) y tratamiento S2 (C).

7.5 Expresión de genes

La expresión relativa de los genes *IL-10* e *IL-1 β* intestinal y de *miosina* y *actina* muscular, se evaluó bajo tres condiciones experimentales: un grupo control sin suplementación con histidina, un tratamiento con 1% de histidina (S1) y otro con 2% de histidina (S2). Los resultados mostraron una disminución en los niveles de expresión génica en todos los genes analizados en los grupos tratados con histidina en comparación con el control. Esta supresión fue consistente para *IL-10*, *IL-1 β* , *miosina* y *actina*.

En cuanto a la expresión de genes de citoquinas en el intestino, si bien, en el tratamiento con más nivel de inclusión de histidina se observó una supresión, solo en el gen *IL-1 β* se observó una diferencia significativa. En la expresión del gen *IL-10* no se detectó diferencias estadísticas debido a la dispersión de datos del tratamiento S1 (Fig. 12A).

Respecto de los genes relativos al desarrollo, la expresión de *actina* en el tratamiento S2, mostró una diferencia significativa en contraste con S1 y Control, los cuales no difirieron entre sí. En cuanto a la expresión de *miosina*, el tratamiento S2 fue diferente al control (Fig. 12B).

En la Fig. 12B se observa una distribución en forma de U en los niveles de IGF entre los grupos evaluados. El grupo control presentó la mayor expresión, seguido por el grupo S2 con valores intermedios, mientras que el grupo S1 mostró la menor expresión. A pesar de esta tendencia visual, el análisis estadístico indicó que las diferencias entre los grupos no fueron significativas en la comparación múltiple.

Aunque la expresión del gen *IL-10* mostró una tendencia a la baja en la expresión, no alcanzó el umbral establecido para la significación estadística y, por tanto, no pueden considerarse regulados de forma diferencial bajo las condiciones probadas.

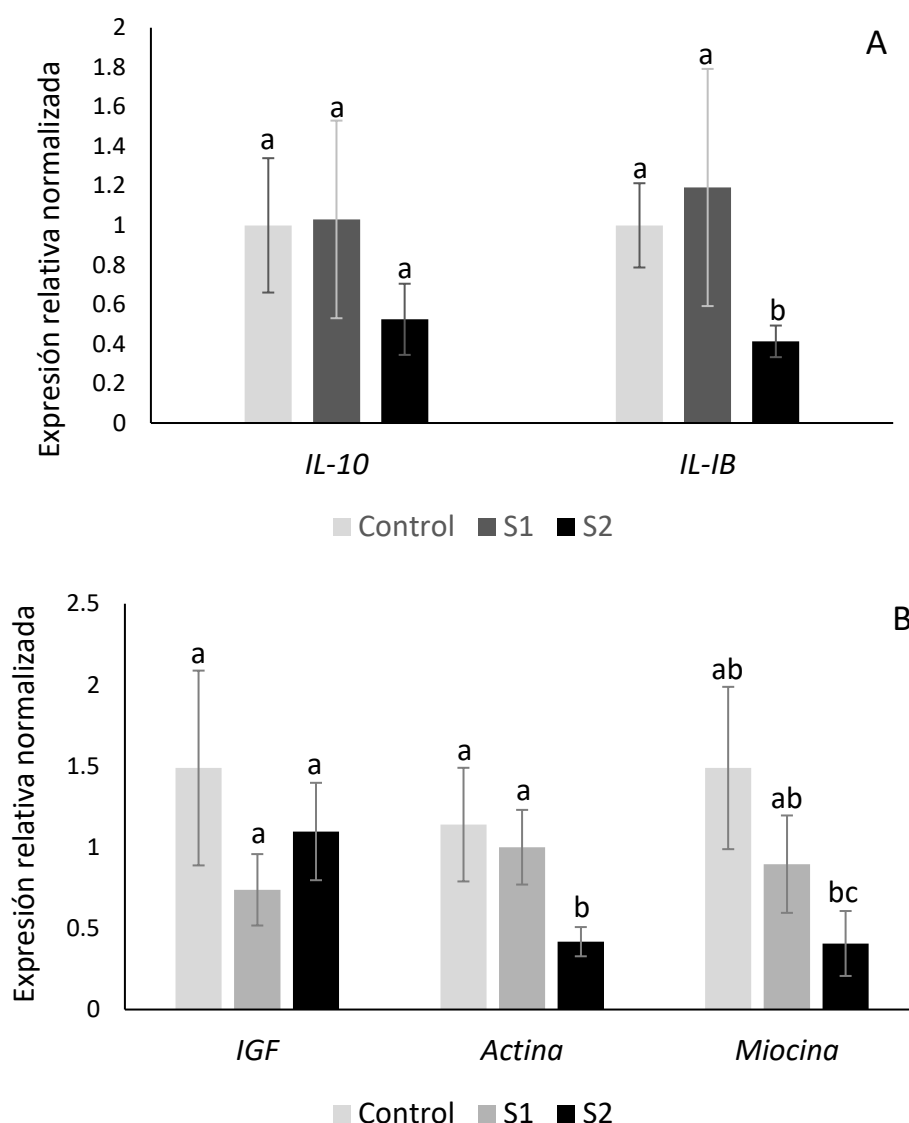


Figura 12. Expresión relativa normalizada de IL-10, IL-1 β , actina, IGF y miosina bajo diferentes tratamientos de suplementación con histidina.

Las barras representan valores medios de expresión $\pm$ desviación estándar para cada gen objetivo. La expresión génica de *IL-1 β* , *actina* y *miosina* muestran una regulación a la baja estadísticamente significativa en S2 en comparación con control ($p < 0.05$). No se detectaron diferencias significativas para *IL-10* e *IGF*.

7.6 Correlaciones

El análisis de correlación reveló una compleja red de asociaciones entre variables fisiológicas, histológicas y moleculares. La cobertura de mucina intestinal emergió como un factor central, mostrando una fuerte correlación positiva con la longitud final ($r = 0.9217$), la abundancia de células calciformes ($r = 0.9978$) y la tasa de supervivencia ($r = 0.9967$) (Fig. 13). La cobertura de mucinas fue significativamente mayor en el grupo S2, mientras que no se observaron diferencias

significativas entre el control y S1 (Fig. 6B). A pesar de sus asociaciones positivas con la longitud final y la supervivencia, la cobertura de mucina se correlacionó negativamente con el índice de condición (K) ($r = -0.9891$), la actividad de SOD ($r = -0.9997$) y la expresión de los genes *IL-10* ($r = -0.9891$) y *actina* ($r = -0.9999$) (Fig. 13).

La supervivencia se asoció fuerte y positivamente con la abundancia de células calciformes y la cobertura de mucina. En cambio, la supervivencia mostró correlaciones negativas con *IL-10* ($r = -1.0000$) e *IL-1 β* ($r = -0.9890$), lo que indica que una menor expresión de estas citocinas se relacionó con mejores resultados de supervivencia. La expresión de *IL-1 β* se redujo significativamente en el grupo S2 en comparación con el control y S1 ($p < 0.05$), y la expresión de *IL-10* fue significativamente menor en ambos grupos suplementados con histidina en comparación con el control.

La longitud final se correlacionó positivamente con el porcentaje de histidina dietética ($r = 0.9986$), biomasa ($r = 0.9980$) y cobertura de mucina, y se correlacionó negativamente con la expresión de *miosina* ($r = -0.9973$), SOD ($r = -0.9313$), *actina* ($r = -0.9156$) e *IL-10* ($r = -0.8545$). Entre los genes relacionados con el desarrollo, solo la expresión de *actina* se redujo significativamente en el grupo S2 en comparación con S1 y el control ($p < 0.05$; Fig. 9), mientras que no se observaron diferencias significativas para *miosina* ni *IGF*.

La biomasa se correlacionó fuertemente con el porcentaje de histidina ($r = 1.0000$), TCE ($r = 0.9990$) y longitud final ($r = 0.9980$), y negativamente correlacionada con *miosina* ($r = -0.9910$), SOD ($r = -0.9520$) y *actina* ($r = -0.9390$).

El análisis complementario de la tasa específica de crecimiento (TCE) reveló correlaciones negativas con *miosina* ($r = -0.9890$) y *actina* ($r = -0.9431$), indicando que una menor expresión de estos genes se asoció con un crecimiento mejorado. La TCE se correlacionó positivamente con la longitud final ($r = 0.9971$).

Finalmente, la actividad enzimática antioxidante mostró una fuerte relación inversa con el peso corporal final. Tanto las actividades de la CAT como de la GPx se correlacionaron negativamente con el peso corporal ($r = -0.963$ y -0.959 , respectivamente).

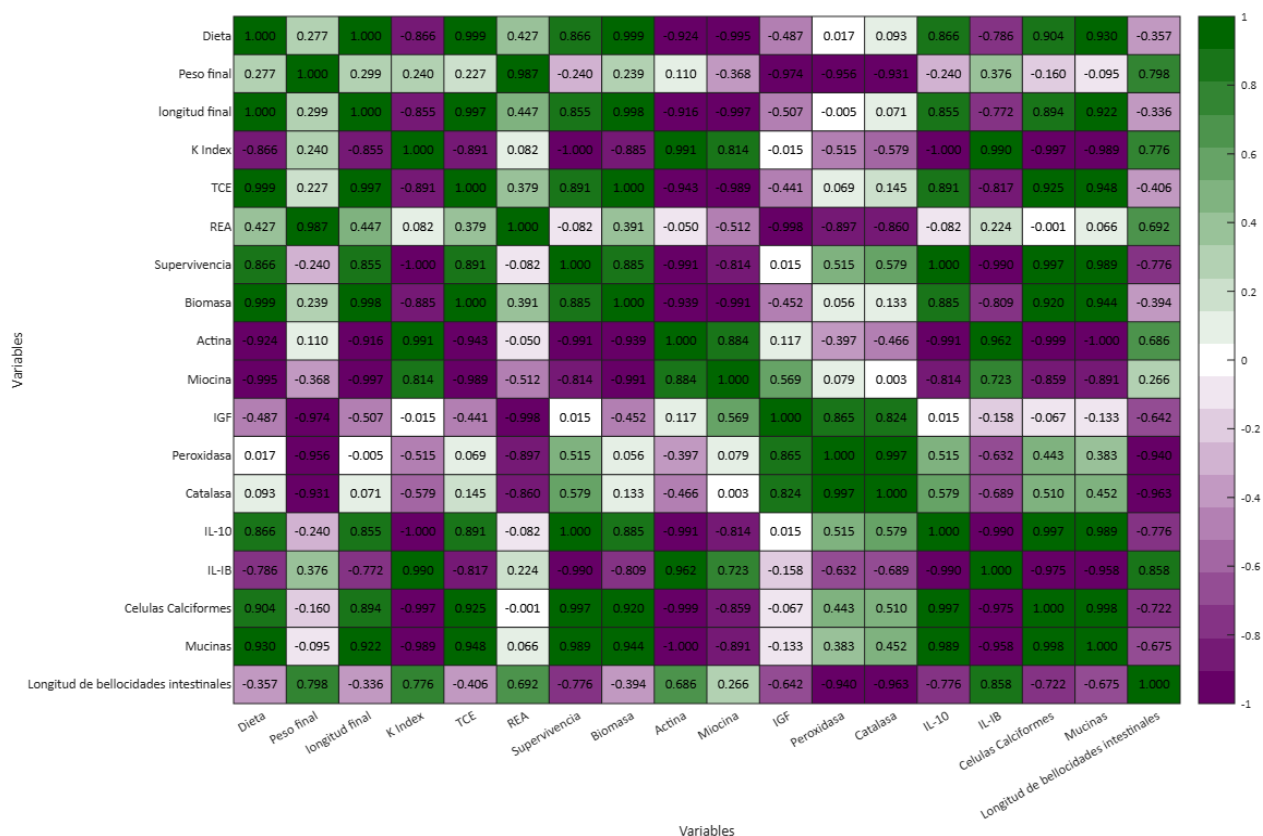


Figura 13. Mapa de calor de correlaciones de Pearson entre variables fisiológicas, bioquímicas y morfológicas.

La matriz muestra coeficientes de correlación por pares que van de -1 (morado) a $+1$ (verde), destacando las relaciones entre el rendimiento del crecimiento, la expresión génica, la actividad enzimática antioxidante y la estructura intestinal. Los tonos verdes representan correlaciones positivas, los tonos morados indican correlaciones negativas y las áreas blancas reflejan correlación débil o nula. La intensidad del color corresponde a la intensidad de la correlación.

8. DISCUSIÓN

8.1 Efecto de la histidina sobre el crecimiento y rendimiento zootécnico

En el presente estudio, la suplementación con histidina no produjo diferencias significativas en el peso corporal final en comparación con el grupo control, incluso con niveles de inclusión superiores a los reportados por autores que han adicionado histidina en juveniles del género *Seriola* (Ogata, 2002; Yamamoto *et al.*, 2019; Booth y Pirozzi, 2022), reflejando este hallazgo una tendencia constante documentada en investigaciones previas sobre especies del género *Seriola*. Ogata (2002) observó que la adición del 2.47 % de histidina a un alimento seco comercial para juveniles de *Seriola quinqueradiata* con peso inicial de 22 g no generó diferencias con el control sin histidina. Yamamoto *et al.* (2019) analizaron niveles de inclusión de histidina entre el 1.2 % y el 1.92 % en juveniles de *S. quinqueradiata* desde 4.66 ± 0.05 g hasta 43.83 ± 8.23 g, durante 45 días, no encontrando diferencias en el peso final. Más recientemente, Booth y Pirozzi (2022) ampliaron estos hallazgos en juveniles *Seriola lalandi* de 80 g en, al paso de siete semanas los organismos alcanzaron un peso de $330.8g \pm 11.46$, sin diferencia entre tratamientos, concluyendo que los niveles de histidina dietética entre el 0.75 % y el 2.42 % no alteraron significativamente el peso de la cosecha.

La ausencia de respuesta de crecimiento a la suplementación con histidina en *Seriola* contrasta con los hallazgos observados en otras especies. En juveniles de *Sciaenops ocellatus*, con un peso inicial de 0.98 ± 0.08 g, la suplementación con histidina durante seis semanas mejoró significativamente la ganancia de peso relativa, estimándose un requerimiento dietario de 0.59 % de la dieta seca (Peachey *et al.*, 2018). De manera similar, en alevines de *Catla catla* con un peso inicial de 0.65 ± 0.36 g, la inclusión de aproximadamente 0.67 % de histidina en la dieta durante 12 semanas produjo la mayor ganancia absoluta de peso (8.63 g pez^{-1}), lo que corresponde a un peso final aproximado de 9.28 g por pez (Zehra y Khan, 2016). Asimismo, en juveniles de *Pseudosciaena crocea* con un peso inicial de 6.0 ± 0.10 g, alimentados durante 51 días, las mayores tasas de crecimiento y peso final se registraron con una concentración de 0.78 % de histidina, estimándose un requerimiento óptimo de 0.87 % de la dieta seca (Li *et al.*, 2014). En conjunto, estos estudios reportaron mejoras significativas en el desempeño productivo con concentraciones de histidina inferiores a las evaluadas en el género *Seriola*. Atribuimos esta

discrepancia a diferencias en los requerimientos nutricionales específicos entre géneros. Se ha observado que numerosas especies pelágicas, caracterizadas por realizar grandes desplazamientos y mantener una elevada actividad natatoria, poseen concentraciones elevadas de histidina y sus derivados en el tejido muscular. Estas reservas se han asociado con funciones relacionadas con el mantenimiento del rendimiento muscular, la capacidad locomotora y la regulación ácido-base, además de su papel en los procesos de crecimiento.

En concordancia con esta tendencia, Ogata (2002) encontró que los juveniles de *Seriola quinqueradiata* generaron concentraciones significativamente mayores de histidina en el músculo blanco dorsal en función del aumento del aminoácido en la dieta. Este hallazgo sugiere que el género *Seriola* posee naturalmente un nivel basal elevado de histidina, lo que refleja una utilización preferencial de este aminoácido para funciones metabólicas distintas al incremento de la masa muscular ante una mayor suplementación.

De manera complementaria, Macías-Reyes *et al.* (2025), mediante una revisión bibliográfica, identificaron una correlación entre la dependencia de la histidina, el nicho ecológico y la intensidad metabólica de diversas especies. Los autores observaron que los nadadores activos requieren reservas elevadas de histidina para sostener la actividad muscular y contribuir a la regulación ácido-base. Estas observaciones coinciden con los hallazgos de Suyama y Yoshisawa (1973) y Suzuki *et al.* (1987), quienes concluyeron que las especies migratorias tienden a acumular histidina y sus derivados, anserina y carnosina, como componentes predominantes (>50 %) del nitrógeno no proteico.

En este contexto, dado el carácter pelágico y la elevada tasa metabólica de las especies de *Seriola*, sus requerimientos basales de histidina probablemente se orientan principalmente a sostener la función muscular y el equilibrio ácido-base, más que a promover un incremento lineal del crecimiento. Por lo tanto, la sobre suplementación con histidina no parece traducirse en ganancias medibles en el crecimiento somático bajo condiciones estándar de cultivo.

En cuanto a la igualdad estadística en las métricas de crecimiento, como la TCE y REA, la ausencia de diferencias significativas en la TCE observada en el presente estudio puede atribuirse a la similitud entre los pesos corporales iniciales y finales de los tratamientos, lo que indica que el

incremento de peso ocurrió a una tasa comparable entre los grupos experimentales. Estos resultados coinciden con lo reportado por Ogata (2002), Yamamoto et al. (2019) y Booth y Pirozzi (2022) en especies del género *Seriola*, quienes tampoco observaron diferencias significativas en la TCE entre los diferentes niveles dietéticos de histidina evaluados.

Aunque ninguno de los estudios analizados reportó diferencias significativas en la TCE entre tratamientos, resulta interesante observar que los valores máximos de crecimiento tendieron a registrarse en dietas con aproximadamente 2 % de histidina. Este patrón fue consistente en *S. rivoliana*, *S. lalandi* y *S. quinqueradiata*, sugiriendo la posible existencia de un intervalo de suplementación cercano a dicho nivel que favorece el desempeño zootécnico de especies del género *Seriola*. Sin embargo, debido a la ausencia de diferencias estadísticas significativas, esta observación debe considerarse únicamente como una tendencia que requiere validación experimental adicional.

Al comparar los valores de TCE reportados para distintas especies del género *Seriola*, se observa que *S. quinqueradiata* presentó tasas de crecimiento superiores ($4.48\text{--}4.75\text{ \% día}^{-1}$) a las registradas para *S. rivoliana* ($3.15\text{--}3.26\text{ \% día}^{-1}$) y *S. lalandi* ($2.82\text{--}3.00\text{ \% día}^{-1}$). Estas diferencias no parecen explicarse únicamente por el peso inicial de los organismos. Por ejemplo, los juveniles de *S. rivoliana* evaluados en el presente estudio iniciaron con un peso promedio de 23 g, similar al reportado por Ogata (2002) para *S. quinqueradiata* (22 g), aunque presentaron valores de TCE considerablemente menores. De igual forma, la duración del ensayo tampoco parece explicar por sí sola las diferencias observadas, ya que Booth y Pirozzi (2022) evaluaron *S. lalandi* durante 49 días, un periodo comparable al utilizado por Yamamoto et al. (2019) y Ogata (2002) (45 y 42 días, respectivamente), pero obtuvieron valores de TCE inferiores.

Asimismo, aunque el régimen de alimentación puede influir en el desempeño zootécnico, los organismos de *S. rivoliana* alimentados con una ración fija del 5 % de la biomasa presentaron valores de TCE similares a los reportados por Booth y Pirozzi (2022) para *S. lalandi* alimentada a saciedad. Por otro lado, los mayores valores de TCE observados por Ogata (2002) y Yamamoto et al. (2019) también fueron obtenidos bajo alimentación a saciedad, lo que sugiere que este factor por sí solo tampoco explica completamente las diferencias observadas entre estudios.

En consecuencia, es probable que las variaciones en la TCE entre estudios estén asociadas a una combinación de factores, incluyendo diferencias fisiológicas entre especies, estrategias de alimentación y variaciones en la composición nutricional de las dietas experimentales, tales como el contenido de proteína, energía, aminoácidos esenciales y minerales.

Entre los estudios sobre suplementación de histidina en peces encontrados, solamente se encontró un estudio en el género *seriola* de la especie *quinqueradiata*, donde los autores observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo suplementado con 1.2% de histidina en la relación de eficiencia de alimentación (REA), no encontrando más cambios en dosis superiores de histidina (Yamamoto *et al.*, 2019), en contraste, en nuestro estudio no se detectó diferencias ante la suplementación del aminoácido. Dado que los pesos finales fueron similares en Yamamoto *et al.* (2019), estas diferencias implican variaciones en la cantidad de alimento consumido, lo que resulta en diferentes eficiencias alimenticias entre los peces que reciben dietas suplementadas con histidina frente al grupo control. Estas discrepancias podrían estar asociadas tanto a diferencias fisiológicas entre especies como a variaciones en los protocolos experimentales empleados. En particular, el uso de una ración fija ajustada a la biomasa pudo haber reducido la variabilidad en el consumo de alimento y limitado la detección de posibles cambios en la eficiencia alimenticia atribuibles a la suplementación con histidina. Por ello, futuras investigaciones en *S. rivoliana* bajo condiciones de alimentación a saciedad podrían contribuir a esclarecer si este aminoácido ejerce algún efecto sobre la utilización del alimento y la eficiencia de crecimiento en esta especie.

Aunque no detectamos diferencias estadísticamente significativas en el peso final, la TCE o la REA en nuestro estudio, la longitud final varió entre tratamientos. La longitud total fue similar entre los peces alimentados con las dietas S1 y S2. No obstante, los organismos del grupo S2 alcanzaron una longitud corporal significativamente mayor que la observada en el grupo control. Por su parte, el grupo S1 no difirió significativamente ni del control ni del grupo S2. Estos resultados sugieren una tendencia positiva en la longitud corporal asociada al aumento de los niveles de histidina en la dieta. No encontramos estudios previos que hayan evaluado la longitud corporal final en especies de *Seriola* en respuesta a la inclusión de histidina dietética; por lo tanto, nuestros resultados constituyen una contribución novedosa a la comprensión de la morfología del

crecimiento en este género, sin embargo, despejando la variable longitud final de la fórmula de factor de condición en la investigación de Booth y Pirozzi (2022) en *Seriola lalandi*, se obtienen longitudes finales de 28.54, 28.37, 28.55, 29.52 y 28.74 cm correspondientes a los porcentajes de histidina de 0.75, 1.16, 1.6, 1.95 y 2.42%, observándose una mayor longitud en los peces del tratamiento con 1.95% de histidina, sin embargo, dado que los autores no realizaron ni reportaron un análisis estadístico de la longitud corporal, esta observación debe interpretarse únicamente como una tendencia descriptiva y no como evidencia concluyente de un efecto de la histidina sobre esta variable. De igual manera despejando la longitud final desde el factor de condición en la investigación de Zehra y Khan (2016) en *Catla Catla* se obtienen longitudes finales de 7.1, 8.13, 8.42, 8.37, 8.39 y 8.21 cm en los porcentajes de inclusión de 0.25, 0.39, 0.53, 0.67, 0.83 y 0.96 respectivamente, observándose un aumento con 0.39% de histidina, en un menor porcentaje a lo observado en el género *Seriola*.

En conjunto, los resultados sugieren que la histidina podría influir preferentemente sobre el crecimiento longitudinal de *S. rivoliana* más que en el peso final, la TCE o la REA. Resulta particularmente interesante que las mayores longitudes corporales en *Seriola* se observaran en dietas cercanas al 2 % de histidina. Aunque estas observaciones requieren confirmación mediante estudios específicamente diseñados para evaluar la respuesta morfométrica al aminoácido.

Al confirmar que los peces del tratamiento S2 presentaron una mayor longitud corporal respecto al grupo control, analizamos el comportamiento del factor de condición de Fulton (K) a lo largo del experimento. Aunque no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos, los peces del grupo S2 mostraron consistentemente valores inferiores del índice K a los observados en S1, lo que sugiere una menor relación peso-longitud.

8.2 Integridad intestinal y respuesta inmune

Los cambios morfométricos intestinales observados ante la suplementación con histidina son consistentes con estudios previos en otros géneros de peces, tal como lo documentaron Taj *et al.*, (2022). Estos autores encontraron que diferentes niveles de histidina (6.9–11.7 g/kg) indujeron modificaciones en los rasgos morfométricos intestinales de meros híbridos (*Epinephelus fuscoguttatus* × *E. lanceolatus*). En su investigación, Taj *et al.* (2022) observaron que

los niveles más bajos (6.9–7.2 g/kg) y más altos (11.1–11.7 g/kg) produjeron una menor altura de las microvellosidades, mientras que las dosis intermedias (8.6–10.7 g/kg) generaron una mayor altura.

De manera similar, en nuestro estudio, la longitud de las vellosidades de la dosis intermedia (S1) mostró las vellosidades más largas, mientras que la suplementación más alta (S2) y la más baja (control) resultaron en vellosidades más cortas. Este patrón indica que la histidina ejerce un efecto dependiente de la dosis sobre la morfología intestinal, donde los niveles óptimos favorecen el crecimiento epitelial, pero una ingesta excesiva puede alterar la integridad estructural.

Al comparar nuestros resultados con los reportados por Hossain *et al.* (2018) en juveniles *Seriola dumerili* de 127.34 ± 18.18 , se observa que el grupo control presentó alturas de pliegues intestinales (755.9 ± 44) similares a lo reportado en nuestro control (712.48 ± 48.99), con valores cercanos a 700 μm . Esta coincidencia sugiere que dicha magnitud podría representar una condición morfológica basal del intestino en juveniles del género *Seriola* dentro de rangos de peso comparables.

Asimismo, se observó que estímulos nutricionales puede inducir modificaciones en la morfología intestinal, ya que tanto en el estudio de Hossain *et al.* (2018) como el presente, la modificación de un nutriente incrementó la longitud de las vellosidades con respecto del control.

Otra concordancia entre el estudio de Hossain *et al.* (2018) y la presente investigación es que la longitud de los pliegues o vellosidades intestinales no aumentó de manera continua conforme se incrementó el nivel del factor dietario evaluado. En ambos estudios se observó un incremento inicial de estas estructuras hasta alcanzar un valor máximo, seguido de una disminución en los niveles superiores de suplementación o sustitución. Este patrón sugiere una respuesta no lineal de la longitud de las vellosidades intestinales frente al estímulo nutricional evaluado, caracterizada por un incremento inicial hasta alcanzar un valor máximo, seguido de una disminución en los niveles superiores de suplementación o sustitución.

Sin embargo, mientras que Hossain et al. (2018) observaron una disminución progresiva de la altura de los pliegues intestinales conforme aumentó el nivel de sustitución de harina de pescado por harina de soya, fenómeno atribuido por los autores a posibles efectos de factores antinutricionales, en el presente estudio la reducción observada en el tratamiento S2 no estuvo acompañada de indicadores compatibles con deterioro intestinal. Por el contrario, los organismos de este tratamiento presentaron una mayor supervivencia, una menor pared intestinal y una mayor producción de mucina. Estos resultados sugieren que una menor longitud de vellosidades no necesariamente refleja una condición intestinal desfavorable y que los cambios morfológicos observados podrían responder a mecanismos fisiológicos distintos a los asociados con daño o inflamación intestinal.

A pesar de encontrar diferencias en la longitud de las vellosidades, no se observaron diferencias en el área cubierta por células caliciformes entre tratamientos. Sin embargo, se registró un aumento notable en la producción de mucina a medida que se incrementó el nivel de histidina en la dieta. Este hallazgo sugiere que la suplementación con histidina se asoció con una mayor producción de mucina sin modificar la abundancia de células caliciformes, indicando una respuesta funcional más que estructural del epitelio intestinal. El aumento en la producción de mucina observado en este estudio sugiere que la histidina podría favorecer mecanismos asociados con el fortalecimiento de la barrera mucosa intestinal. Hasta donde conocemos, no existen estudios que hayan evaluado directamente el efecto de la histidina sobre la producción de mucinas en peces. Por ello, los resultados obtenidos en este trabajo aportan evidencia novedosa sobre una posible relación entre la suplementación con histidina y la respuesta mucosa intestinal.

En cuanto al incremento en la producción de mucina observado en el presente estudio, este podría tener implicaciones funcionales importantes. En este sentido, Teles *et al.* (2022) reportaron que larvas de *Seriola rivoliana* alimentadas con presas enriquecidas con *Debaryomyces hansenii* presentaron una mayor expresión del gen *MUC-2* en intestino, acompañada de un incremento en la mineralización y la supervivencia. Aunque el estímulo nutricional utilizado por estos autores fue diferente al empleado en este estudio, sus resultados respaldan la importancia de las mucinas intestinales como un componente asociado al adecuado

desarrollo larval de *S. rivoliana*. De manera similar, Fernández-Montero *et al.* (2019) observaron que la suplementación dietética con manano-oligosacáridos incrementó la expresión del gen *MUC-2* en el intestino posterior de juveniles de *Seriola dumerili*, efecto que los autores relacionaron con una mayor producción de moco y un fortalecimiento de las defensas mucosales frente a agentes patógenos. Estos hallazgos sugieren que distintos estímulos nutricionales pueden modular la producción de mucinas y estas a su vez, mejorar el desarrollo y supervivencia del género *Seriola*.

Debido a que el tratamiento con mayor suplementación (S2) presentó simultáneamente un incremento en la producción de mucina, una mayor actividad de CAT y una mayor supervivencia, estos resultados sugieren que la histidina promovió cambios fisiológicos que podrían trascender su función como aminoácido estructural. Al respecto, Gao *et al.* (2016) evaluaron diferentes niveles de histidina en carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*), encontrando que los peces alimentados con dietas deficientes en histidina presentaron una menor actividad de CAT, una menor capacidad antioxidante total y una menor tolerancia a condiciones de hipoxia. Estos resultados sugieren que una cantidad adecuada de histidina ayuda a mantener mecanismos antioxidantes y mejorar la capacidad de respuesta frente al estrés.

Una hipótesis plausible ser la síntesis de histamina a partir de su precursor histidina (Brosnan y Brosnan, 2020) ya que esta amina biogénica es altamente expresada en mastocitos (MC) y células enterocromafines de la mucosa el estómago de peces y está relacionada con la regulación de la inmunidad y la homeostasis intestinal (Aures *et al.*, 1968; Galindo-Villegas *et al.*, 2016; Hirasawa, 2019; Liu *et al.*, 2021; Booth y Pirozzi, 2022). Además, la conversión de histidina a histamina y su posterior degradación por amino oxidasas puede generar peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Alvarez y Moreno-arribas, 2014; Brosnan y Brosnan, 2020; Moro *et al.*, 2020), un sustrato cuya acumulación suele inducir la actividad de enzimas antioxidantes como la CAT (Vlasits *et al.*, 2007). Adicionalmente, la SOD no mostró diferencias entre los tratamientos, debido a que los organismos no fueron estimulados ante algún agente estresante como lo observado por Mazón-Suástegui *et al.* (2018) donde ante metabolitos de *Vibrio* se generó una mayor actividad SOD. La ausencia de cambios significativos en la actividad de la SOD también sugiere que el aumento de CAT no estaría asociado principalmente al H_2O_2 derivado de la dismutación del anión superóxido.

No obstante, dado que en el presente estudio no se cuantificaron los niveles de histamina ni la actividad de las enzimas involucradas en su síntesis y degradación, esta posible relación debe considerarse únicamente como una hipótesis que requiere verificación experimental.

La actividad de la CAT puede verse influenciada por múltiples fuentes de peróxido de hidrógeno, diferentes al generado a partir de la actividad de la SOD. Diversos procesos inflamatorios han sido asociados con una mayor producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Wittmann *et al.*, 2012). En el presente estudio, el tratamiento control presentó un mayor grosor de la pared intestinal en comparación con los tratamientos suplementados con histidina, además de una elevada actividad de CAT. Este patrón podría ser consistente con una mayor generación local de ROS asociada a modificaciones en el estado fisiológico intestinal (Wittmann *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2018). Por otra parte, el tratamiento S2 también presentó una elevada actividad de CAT, pero sin el incremento en el grosor intestinal observado en el control.

El tratamiento intermedio con histidina (S1) mostró una actividad significativamente menor de la CAT, en este sentido, se sabe que las mucinas limitan la formación de ROS catalizada por cobre y las reacciones de propagación oxidativa mediante la captura de este metal (Buettner y Jurkiewicz, 1996; Rubino y Franz, 2012; Reznik *et al.*, 2022), específicamente, la mucina es capaz de unirse a iones de cobre mediante los residuos de histidina y metionina contenidos en su dominio D1 (Rubino y Franz, 2012; Reznik *et al.*, 2022). La capacidad de las mucinas para unirse a iones de cobre podría limitar la disponibilidad de este metal para participar en reacciones redox que favorecen la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Buettner y Jurkiewicz, 1996; Rubino y Franz, 2012; Reznik *et al.*, 2022). disminuyendo la necesidad de una desintoxicación mediada por la CAT.

Adicionalmente, Creeth *et al.* (1983) observaron que la exposición de glicoproteínas mucosas al peróxido de hidrógeno provocó una disminución significativa en el contenido de residuos de histidina. Este resultado sugiere que dichos residuos son particularmente susceptibles a modificaciones oxidativas y podrían actuar como sitios preferenciales de reacción frente a especies oxidantes. En consecuencia, las regiones ricas en histidina presentes en las mucinas

podrían contribuir a amortiguar el daño oxidativo mediante la captura o neutralización parcial de especies reactivas antes de que éstas afecten otras estructuras biológicas.

Considerando que el tratamiento S1 presentó una mayor producción de mucina acompañada de una menor actividad de CAT, es posible que los mecanismos antioxidantes asociados a la barrera mucosa hayan contribuido al mantenimiento del equilibrio redox. En conjunto, estos resultados sugieren que *S. rivoliana* podría emplear estrategias antioxidantes complementarias que involucren tanto mecanismos enzimáticos, representados por la actividad de CAT, como mecanismos asociados a la barrera mucosa y a las propiedades antioxidantes potenciales de las mucinas.

La actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GPx) no mostró diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, lo que indica que la suplementación con histidina no modificó de manera apreciable esta vía antioxidante. En contraste, se observó un aumento en la actividad de la CAT, sugiriendo una respuesta diferencial de los sistemas antioxidantes frente a las condiciones fisiológicas inducidas por los tratamientos. La CAT es una enzima especializada en la rápida desintoxicación del peróxido de hidrógeno (H_2O_2), ya que únicamente requiere la unión de esta molécula a su sitio activo para catalizar su transformación, mientras que las peroxidases dependen de equivalentes reductores como el glutatión o el ascorbato para mantener su actividad (De Marco y Roubelakis-Angelakis, 1996; Vlasits *et al.*, 2007). Esta diferencia convierte a la CAT en una enzima particularmente eficiente cuando las concentraciones de H_2O_2 son elevadas. En escenarios donde existe una generación sostenida o localizada de este compuesto, los sistemas de peroxidasa pueden verse limitados por la disponibilidad de cofactores reductores o por restricciones cinéticas asociadas a su mecanismo de acción. Por ello, el incremento de la actividad de CAT en ausencia de cambios en la GPx es consistente con una respuesta antioxidante orientada a la eliminación eficiente de H_2O_2 .

En cuanto a las citocinas, se observó una menor expresión de *IL-1 β* e *IL-10* que, sumada al aumento en la producción de mucina y al menor grosor de la pared intestinal, sugiere una modificación del estado fisiológico e inmunitario de la mucosa intestinal.

Estudios como el de Yang *et al.* (2018) han demostrado que la histidina participa en la regulación de la respuesta inmune intestinal. Los autores observaron que niveles óptimos de histidina disminuyeron la expresión de citocinas proinflamatorias (*IL-8* y *TNF- α*) e incrementaron la expresión de citocinas antiinflamatorias (*IL-10* y *TGF- β*) en el intestino de *Megalobrama amblycephala*, lo que fue interpretado como una atenuación de la respuesta inflamatoria intestinal y una mejora de la salud intestinal.

Más allá de la regulación del moco, nuestros resultados indican una relación inversa entre las citocinas *IL-10* e *IL-1 β* con el área de cobertura de mucinas. Esta relación sugiere que la histidina fomenta la producción de mucina y una condición intestinal asociada a una menor respuesta inflamatoria. De manera similar, (Fernández-Montero *et al.*, 2019) reportaron que la suplementación con manano-oligosacáridos moduló la expresión de genes inmunitarios, incluyendo *IL-1 β* e *IL-10*, junto con un incremento en la expresión de *MUC2*, lo que fue interpretado como una mejora de la función inmunitaria y de la barrera mucosa intestinal. Estos antecedentes respaldan la estrecha interacción entre la respuesta inmunitaria local y la producción de mucinas en el intestino de los peces.

Al respecto, (Son *et al.*, 2005) demostraron que la histidina inhibió la inflamación inducida por el estrés oxidativo en células epiteliales intestinales humanas, lo que destaca su potencial como aminoácido inmunomodulador. Este hallazgo, aunque derivado de modelos de cultivo celular humano, apoya la idea de que la histidina puede contribuir a la homeostasis intestinal no solo por su papel en la producción de mucina, sino también por atenuar las respuestas inflamatorias. En el mismo sentido, diversos autores han documentado que los metabolitos derivados de la histidina pueden inhibir la expresión de citocinas proinflamatorias (Mulero *et al.*, 2007; Kim y Khan, 2013; Galindo-Villegas *et al.*, 2016). En peces de agua dulce, como la lobina (*Micropterus salmoides*) la deficiencia de histidina inhibe la capacidad antioxidante intestinal e induce estrés endoplásmico-retículo intestinal, respuesta inflamatoria, apoptosis y necroptosis (Liang *et al.*, 2022). En conjunto, estos hallazgos indican que la histidina actúa como un aminoácido inmunomodulador que equilibra la protección mediada por el moco y la inflamación controlada para mantener la homeostasis intestinal.

El aumento observado en la producción de mucina acompañado de la inhibición de las citocinas involucradas en procesos inflamatorios también puede ayudar a explicar las mayores tasas de supervivencia registradas en los grupos alimentados con histidina. Al fortalecer la barrera mucosa, los peces adquieren una mejor resistencia frente a patógenos oportunistas y mejora la absorción de nutrientes, lo que reduce los riesgos de mortalidad (Levy y Frondoza, 1983; Bury *et al.*, 2003; Glover y Hogstrand, 2003; Salinas *et al.*, 2022).

En conjunto, estos resultados demuestran que la suplementación con histidina promueve la salud intestinal al mejorar la integridad de la barrera epitelial y modular las respuestas inmunitarias. Las correlaciones observadas entre mucinas y citocinas afirman la idea de que la histidina contribuye a un ambiente intestinal antiinflamatorio.

8.3 Regulación de la expresión génica asociada al crecimiento

La evaluación de la expresión génica relacionada con el crecimiento proporcionó información adicional sobre los mecanismos mediante los cuales la suplementación con histidina influye en el rendimiento de *Seriola rivoliana*. En particular, la expresión del factor de crecimiento similar a la insulina (*IGF*), la *actina* y la *miosina* reveló patrones de asociación con los parámetros de crecimiento.

En diversos estudios, la expresión hepática de IGF-1 se ha asociado positivamente con el crecimiento y el peso final de los peces, como lo reportado por Taj *et al.* (2022) en juveniles de mero híbrido (*Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus*), donde la suplementación con diferentes niveles de histidina incrementó significativamente la expresión relativa de *IGF-1*, la cual se correlacionó positivamente con el peso final. A diferencia de lo reportado por Taj *et al.* (2022), nuestros resultados mostraron que la inclusión de histidina no produjo diferencias significativas en la expresión del gen *IGF* en músculo ni en el peso final entre tratamientos. A pesar de no encontrar diferencias significativas, observamos una tendencia donde una mayor expresión del gen se asoció con un menor peso y viceversa. Esta tendencia tiene respaldo en que la expresión del gen *IGF* en músculo puede incrementarse en respuesta a procesos de daño y regeneración tisular, ya que este factor de crecimiento participa activamente en la activación de vías de señalización asociadas a la proliferación y diferenciación celular (Saera-vila *et al.*, 2018).

En este sentido, la mayor expresión de *IGF* observada en el grupo control, junto con su menor peso final, podría relacionarse con un mayor recambio o reparación muscular. En contraste, el tratamiento S1 presentó una menor expresión del gen *IGF* y un mayor peso final, lo que sugiere un estado fisiológico más estable con una menor necesidad de activar mecanismos de regeneración tisular.

Por otra parte, el efecto de la histidina sobre el crecimiento ha sido reportado principalmente en especies de menor actividad metabólica, como en juveniles de mero híbrido *Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus* (Taj *et al.*, 2022). En contraste, las especies pelágicas altamente activas, como *Seriola rivoliana*, *Seriola lalandi*, *Seriola dumerili*, *Auxis thazard*, *Katsuwonus pelamis*, *Thunnus albacares*, *Thunnus alalunga*, *Sarda sarda*, *Scomberomorus munroi* y *Scomber scombrus*, presentan mayores requerimientos de histidina asociados a su elevada actividad natatoria. En estas especies, la histidina cumple un papel fundamental en la regulación ácido-base y en el mantenimiento de la función muscular (Macías-Reyes *et al.*, 2025). En este contexto, es posible que la histidina se utilice preferentemente para funciones fisiológicas relacionadas con la homeostasis y la contracción muscular, en lugar de destinarse directamente al crecimiento somático. Como lo observado por Ogata (2002) quien demostró que la suplementación con histidina en la dieta de juveniles de *Seriola quinqueradiata* no produjo un aumento en el crecimiento corporal, pero sí generó niveles significativamente más altos de histidina libre en el músculo en comparación con el grupo control, lo que se tradujo en una mayor capacidad de amortiguación del pH. Estos resultados, junto con lo reportado por Ogata (2002), sugieren que en especies del género *Seriola* la histidina podría desempeñar funciones fisiológicas relacionadas con la regulación ácido-base y el mantenimiento de la homeostasis muscular, aun cuando ello no se traduzca necesariamente en un aumento del crecimiento corporal.

Adicionalmente, que los organismos que alcanzaron una mayor longitud final tendieron a presentar menores niveles de expresión de los genes estructurales actina y miosina. Este patrón coincidió con el incremento progresivo de histidina en la dieta, sugiriendo que el crecimiento longitudinal observado no estuvo acompañado por una mayor expresión de proteínas contráctiles musculares.

De manera similar, los organismos que presentaron una menor expresión de actina también mostraron valores más bajos del índice de Fulton (k), indicando una menor masa corporal relativa respecto a la longitud.

En conjunto, los resultados indican que la suplementación con histidina en *S. rivoliana* no promueve el crecimiento a través de un aumento directo en la expresión de genes estructurales o del *IGF*, lo que sugiere la participación de otros mecanismos fisiológicos asociados al desempeño de los organismos.

Adicionalmente, el peso final mostró una fuerte correlación negativa con las actividades de CAT y POD. Los tratamientos que presentaron mayores actividades antioxidantes tendieron a exhibir menores pesos corporales, mientras que el tratamiento S1 mostró simultáneamente el mayor peso y las menores actividades enzimáticas. Este patrón sugiere que una menor necesidad de activar mecanismos antioxidantes podría estar asociada con una mayor asignación de recursos al crecimiento.

En conclusión, los resultados sugieren que la suplementación con histidina favorece el crecimiento longitudinal de *S. rivoliana* sin incrementar la expresión de genes musculares asociados al crecimiento. De hecho, tanto la expresión de *IGF* como la de los genes estructurales actina y miosina mostraron relaciones inversas con los indicadores de crecimiento observados.

8.4 Correlaciones funcionales que vinculan el crecimiento, las mucinas y la supervivencia

El análisis de correlaciones nos proporcionó una visión integral de cómo la suplementación con histidina afecta diferentes dimensiones biológicas en *Seriola rivoliana*. La longitud final emergió como un rasgo central y mostró fuertes correlaciones positivas con el porcentaje dietético de histidina ($r = 0.99$), la biomasa ($r = 0.99$) y la abundancia de mucina ($r = 0.92$). Estas asociaciones sugieren que la histidina apoya simultáneamente el desarrollo mucoso y el crecimiento somático, lo que establece un vínculo entre la disponibilidad de nutrientes, la función intestinal y el proceso de mineralización.

Respecto a la correlación positiva entre el área de cobertura de mucinas y la longitud final, diversos autores han relacionado las mucinas con la regulación de la mineralización tisular,

incluyendo la formación de nácar en moluscos (Marin *et al.*, 2000), la calcificación en equinodermos y la formación ósea en vertebrados (Midura, 1996). Esta evidencia indica que la secreción de moco epitelial desempeña un papel importante en el mantenimiento de la solubilidad de los minerales en los peces. El moco forma quelatos metal-mucina que ayudan a retener los metales en solución dentro del tracto intestinal, aumentando así su disponibilidad para su absorción. Este proceso facilita la disponibilidad de minerales esenciales necesarios para el desarrollo esquelético (Bury *et al.*, 2003; Glover y Hogstrand, 2003).

Apoyando estos hallazgos, Teles *et al.* (2022) encontraron que las larvas de *Seriola rivoliana* exhibieron un aumento en la producción de mucina en el tracto digestivo, junto con una regulación al alza del gen *muc-2*, debido a la alimentación con presas vivas enriquecidas con *Debaryomyces hansenii*. Este aumento en la secreción de mucina se vinculó con una mayor longitud larval, una mayor mineralización esquelética y una reducción de las deformidades esqueléticas. Estos hallazgos refuerzan la relación entre las mucinas y la biodisponibilidad mineral, lo que promueve así el desarrollo óseo y el crecimiento longitudinal.

En cuanto a la disponibilidad de minerales en los peces, diversos estudios han identificado al zinc como un elemento crítico para el crecimiento y la salud general. La deficiencia de este mineral se ha asociado con tasas de crecimiento extremadamente bajas, alta mortalidad, digestión reducida de las proteínas y el desarrollo de patologías específicas (Ogino y Guang-Yang, 1978; Faiz *et al.*, 2015; Domínguez *et al.*, 2019). Investigaciones previas han demostrado que los signos comunes de deficiencias minerales en peces incluyen una reducción de la mineralización ósea, anorexia, cataratas (relacionadas con la deficiencia de zinc), deformidades esqueléticas (asociadas a deficiencias de fósforo, magnesio y zinc) y erosión de las aletas (comúnmente relacionada con desequilibrios de cobre y zinc) (Rhodes *et al.*, 2010; Lall y Kaushik, 2021). Por su parte, Ogino y Guang-Yang (1978) confirmaron estas observaciones en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), mostrando que las dietas con un contenido muy bajo de zinc (1 ppm) producían tasas de crecimiento extremadamente bajas, alta mortalidad, cataratas y erosión de aletas y piel. Además, estos autores demostraron que la deficiencia de zinc reduce la digestibilidad tanto de la proteína como de los carbohidratos, siendo la proteína la más gravemente afectada (Ogino y Guang-Yang, 1978).

Otros estudios han reportado efectos similares en otras especies, como la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*) y la dorada (*Sparus aurata*), donde la baja disponibilidad de zinc influyó negativamente en el crecimiento, la deposición mineral y la resistencia al estrés oxidativo (Faiz *et al.*, 2015; Domínguez *et al.*, 2019). En conjunto, estos hallazgos subrayan el papel fundamental del zinc en el mantenimiento del crecimiento normal, la integridad ósea y la salud en los peces. Por el contrario, las dietas enriquecidas con zinc aumentan la deposición de nutrientes y las actividades enzimáticas intestinales, lo que promueve el crecimiento (Tan *et al.*, 2011).

Aunque el zinc puede absorberse tanto por las branquias como por el tracto gastrointestinal, estudios previos han demostrado que el tracto gastrointestinal constituye la principal vía de absorción tanto en ambientes de agua dulce como marinos (Spry *et al.*, 1988; Glover y Hogstrand, 2002; Lall y Kaushik, 2021). Sin embargo, las alteraciones en el transporte de zinc no solo dependen de cambios en los niveles de iones de zinc libres, sino también de la naturaleza química de los quelatos de aminoácidos con el zinc, lo que influye en la absorción de este mineral. En este contexto, la histidina modula la absorción intestinal de zinc no porque reduzca su fracción libre, sino porque forma complejos químicos específicos, como $\text{Zn}(\text{His})_2$, que son compatibles con los mecanismos de transporte intestinal (Glover y Hogstrand, 2002).

También existen minerales que afectan la absorción del zinc. Lönnerdal (2000) demostró en su investigación que al coadministrar zinc y hierro en una proporción molar de 1:25 —una condición comúnmente encontrada en suplementos fortificados— la absorción de zinc se ve significativamente afectada. Curiosamente, cuando se incluyó histidina en la formulación, este efecto inhibitorio dejó de observarse, incluso bajo la misma proporción hierro:zinc. Estos hallazgos ponen de manifiesto el papel modulador de la histidina en la biodisponibilidad mineral. En lugar de actuar únicamente como agente quelante, la histidina parece facilitar la absorción del zinc al formar complejos solubles que permanecen disponibles para su absorción en presencia de iones competidores como el hierro. Este mecanismo ha posicionado a la histidina como un aditivo valioso en formulaciones de suplementos, especialmente en contextos donde la interferencia inducida por el hierro en la absorción de zinc constituye una preocupación.

En este sentido, Djellarta (2021), al suplementar histidina en larvas de *Seriola dumerili*, reportó resultados consistentes con los de Teles et al. (2022) y observó una mejora en el desarrollo larval y una menor incidencia de deformidades esqueléticas.

Mediante criomicroscopía electrónica en mucinas humanas, diversos investigadores han revelado que la región amino-terminal de la mucina intestinal contiene un agrupamiento distintivo de residuos de histidina y metionina dentro del dominio del factor tipo D de von Willebrand. En ensayos de unión metálica utilizando termofóresis a microescala, observaron una clara preferencia por Cu^{2+} y Zn^{2+} (Reznik *et al.*, 2022). Estos hallazgos demuestran que los residuos de histidina dentro de las mucinas desempeñan un papel crucial en la biodisponibilidad del zinc al facilitar su absorción y utilización en el organismo. En conjunto, estas observaciones confirman que tanto la histidina libre como su incorporación en glicoproteínas estructurales como las mucinas influyen significativamente en la absorción y utilización del zinc en peces y otros organismos.

Por el contrario, la longitud final mostró correlaciones negativas con la *miosina* ($r = -0.9973$), la *actina* ($r = -0.9156$), la enzima SOD ($r = -0.9313$) y la *IL-10* ($r = -0.8545$). Estos hallazgos refuerzan la idea de que el crecimiento potenciado por histidina va acompañado de una regulación a la baja de ciertos marcadores moleculares y de estrés oxidativo, lo que resulta compatible con un cambio hacia una regulación celular más eficiente en lugar de un aumento de la actividad transcripcional o de la defensa oxidativa intensificada.

Diversos estudios han documentado que la histidina dietética óptima reduce las respuestas inflamatorias en tejidos como el intestino (Yang *et al.*, 2018) y las branquias (Jiang *et al.*, 2016) al regular a la baja la expresión génica del $\text{TNF-}\alpha$. Como concluyen Taj et al. (2022), la modulación de la expresión de $\text{TNF-}\alpha$ y la activación de Nrf2 sugieren un posible efecto antiinflamatorio y antioxidante de la histidina dietética.

Los resultados de supervivencia también estuvieron estrechamente asociados con la integridad intestinal. La tasa de supervivencia mostró una fuerte correlación positiva con la abundancia de células caliciformes ($r = 0.9967$), que a su vez se correlacionó positivamente con las mucinas ($r = 0.9978$). Las mucinas, por su parte, mostraron correlaciones negativas con la SOD, la *IL-10*, la

actina y el índice de condición de Fulton (*K*). Esta red de correlaciones indica que la integridad mucosa actúa como un factor clave no solo para la absorción de nutrientes, sino también para la resiliencia y la supervivencia, integrando así el impacto de la histidina en el crecimiento, la inmunidad y la fisiología.

Estos resultados sugieren que la histidina contribuye a mantener la homeostasis inmune intestinal al suprimir la activación inmune excesiva, promoviendo así un ambiente mucoso estable sin desencadenar respuestas inflamatorias innecesarias. El aumento simultáneo en la producción de mucina con niveles más altos de histidina refuerza aún más la idea de que el intestino se encuentra estructuralmente reforzado, lo que contribuye a una mejor salud intestinal y a la protección del huésped.

En nuestro estudio, tanto la expresión de *IL-10* como la de *IL-1 β* se correlacionaron negativamente con las tasas de supervivencia, lo que sugiere que la supresión de estos genes favorece un entorno intestinal más estable y saludable. Picchietti *et al.* (2009) observaron un fenómeno similar en *Dicentrarchus labrax*, donde la administración de una cepa de *Lactobacillus delbrueckii* resultó en la disminución de la expresión de *IL-1 β* e *IL-10*. El grupo tratado mostró niveles de transcripción significativamente más bajos de *IL-1 β* , junto con una tendencia a la reducción de la expresión de *IL-10*, *COX-2* y *TGF- β* , lo que indica la modulación de la respuesta inmunitaria intestinal y la supresión de las principales vías de señalización proinflamatoria (Picchietti *et al.*, 2009).

Los efectos antiinflamatorios de la histidina se han atribuido a sus propiedades antioxidantes y a su capacidad para modular vías clave de señalización. Son *et al.* (2005) demostraron que la histidina inhibe significativamente la secreción de *IL-8* en células epiteliales intestinales expuestas al estrés oxidativo mediante la supresión de la activación de *NF- κ B* inducida por *TNF- α* . Esta inhibición dependía de la dosis, con tasas de supresión superiores al 78 % a concentraciones de 25 mM en células Caco-2, y un efecto similar observado en células HT-29. Aunque nuestras concentraciones experimentales de histidina (131 mM y 180 mM en S1 y S2, respectivamente) difieren de las reportadas por Son *et al.* (2005), atribuimos esta discrepancia a la naturaleza *in vivo* de nuestro estudio en peces en comparación con las condiciones *in vitro* en células humanas

utilizadas en investigaciones anteriores. Aunque no analizamos la *IL-8* directamente en nuestro estudio, sabemos que la expresión de *IL-8* puede aumentar en respuesta a la citocina *IL-1β* (Yamamoto *et al.*, 2003). Cabe destacar que evaluamos los niveles de *IL-1β* y observamos una disminución progresiva de su expresión al aumentar la suplementación con histidina, lo que sugiere una posible atenuación posterior de la señalización de *IL-8*.

Además, diversos autores han demostrado que la L-histidina protege el intestino del daño inducido por *Salmonella typhimurium*, la toxina del cólera y las infecciones por *Nippostrongylus brasiliensis* en rata (Levy y Frondoza, 1983; Peterson *et al.*, 1998, 2001). Estos efectos se relacionaron con la capacidad de la histidina para reducir la formación de especies reactivas de oxígeno e inhibir la actividad de PGE2, ambos aspectos críticos en los procesos inflamatorios. Aunque Peterson *et al.* no evaluaron directamente la expresión de las citocinas, sus hallazgos refuerzan el papel antioxidante y protector de la histidina en la salud intestinal.

En conjunto, nuestros resultados y las investigaciones previas destacan a la histidina como un compuesto prometedor para modular la inflamación intestinal. La histidina puede regular la expresión génica, reducir el estrés oxidativo y aumentar la producción de mucina. Este efecto se explica en parte por su naturaleza química como aminoácido básico con alta afinidad por los metales, lo que le permite influir en la regulación de iones traza como Zn^{2+} y Cu^{2+} . Estos iones están estrechamente vinculados a la síntesis de glicoproteínas, incluidas las mucinas. En conjunto, estos mecanismos pueden mejorar la función inmunitaria, aumentar las tasas de supervivencia y, en última instancia, potenciar la biomasa final. Por ello, la histidina surge como un posible suplemento dietético funcional para promover la salud intestinal y prevenir patologías relacionadas con la inflamación.

8.5 Implicaciones para las prácticas de nutrición y acuicultura de *S. rivoliana*

El presente estudio destaca la histidina dietética como un factor clave para optimizar el crecimiento, la integridad intestinal y la regulación inmunitaria en juveniles de *Seriola rivoliana*. Desde una perspectiva práctica, estos hallazgos subrayan la importancia de incluir la histidina en niveles adecuados dentro de las dietas formuladas para lograr un mejor rendimiento y supervivencia.

En los sistemas acuícolas, donde la presión de las enfermedades y la eficiencia del crecimiento resultan críticas (FAO, 2024a), el doble papel de la histidina —potenciar el desarrollo somático mientras refuerza las barreras mucosas (Aures *et al.*, 1968; Taj *et al.*, 2022)— ofrece una ventaja especialmente valiosa. Más allá de *S. rivoliana*, mecanismos similares pueden aplicarse a otros peces marinos carnívoros, lo que sugiere que la suplementación con histidina podría tener una amplia relevancia para la formulación de alimentos en especies de alto valor comercial.

No obstante, varias preguntas permanecen abiertas. Los vínculos mecanísticos entre la histidina, la biosíntesis de mucinas y la regulación de las citocinas requieren una exploración más profunda, potencialmente mediante enfoques metabolómicos, proteómicos o microbiómicos. Asimismo, la evaluación de la resiliencia de los peces alimentados con histidina frente al desafío de patógenos proporcionaría conocimientos aplicados cruciales.

Este trabajo establece la histidina como un componente dietético esencial para el cultivo sostenible de *S. rivoliana*. Al integrar evidencia molecular, histológica y zootécnica, demostramos que la suplementación con histidina favorece una mejora integral en el rendimiento de los peces, lo que allana el camino hacia prácticas acuícolas más eficientes y resilientes. Por lo que, en estudios posteriores, recomendamos analizar genes relacionados con el desarrollo óseo de teleósteos (*col1α1*, *col1α2*, *bmp2*, *bmp4*, *bmp7*, *spp1* u *osteopontina*), así como genes implicados en la mineralización (*alpl*, *phospho1*) o enzimas (fosfatasa alcalina). También sugerimos realizar análisis de la actividad de la histidina descarboxilasa o evaluar la abundancia de mastocitos mediante histología o microscopía electrónica de barrido como lo observó Aures *et al.* (1968).

9. CONCLUSIONES

La histidina influyó sobre la longitud de las criptas digestivas y estas a su vez sobre el peso final, sin embargo, los pesos no difieren con el control, por lo que la histidina no mejoró el crecimiento en peso ni los indicadores clásicos de desempeño zootécnico, pero promovió cambios intestinales caracterizados por una mayor producción de mucina, una reducción del grosor de la pared intestinal y modificaciones en la expresión de genes relacionados a la inmunidad. Estos cambios estuvieron asociados con una mayor longitud del organismo, supervivencia y biomasa final, sugiriendo que los beneficios de la suplementación con histidina se relacionan principalmente con la optimización de la salud intestinal más que con una estimulación directa del crecimiento muscular.

En conjunto, estos resultados indican que la histidina dietética desempeña un doble papel: fortalece la barrera epitelial y modula la función inmunitaria en el intestino. Esta mejora en la protección intestinal podría contribuir a las mayores tasas de supervivencia registradas en los grupos alimentados con histidina, aunque los mecanismos responsables de este efecto requieren una evaluación más detallada. Futuras investigaciones deberán explorar más a fondo los efectos sistémicos de la suplementación con histidina mediante la evaluación de la expresión de genes relacionados con el crecimiento esquelético (factores de señalización de colágeno y hueso), la medición de los niveles hepáticos de hormonas reguladoras del crecimiento como *IGF-1* y *GH*, y el análisis de la expresión de genes implicados en la producción de mucina (*MUC2*) y en el transporte intestinal de nutrientes, incluidos los transportadores de zinc y calcio. En conjunto, estos enfoques proporcionarán una visión más profunda de los roles fisiológicos más amplios de la histidina y de su contribución al rendimiento del crecimiento, la funcionalidad intestinal y la resiliencia general bajo condiciones ambientales desafiantes (Alvarez y Moreno-arribas, 2014).

10. LITERATURA CITADA

- Abe, H. (2000). Role of Histidine-Related Compounds as Intracellular Proton Buffering Constituents in Vertebrate Muscle. *Biochemistry (Moscow)*, 65(7): 757-765
- Alvarez, M.A. y Moreno-arribas, M.V. (2014). The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic microorganisms as a solution. *Trends in Food Science & Technology*, 39(2): 146-155. doi: 10.1016/j.tifs.2014.07.007
- Andersen, S.M., Waagbø, R. y Espe, M. (2016). Functional amino acids in fish health and welfare. *Frontiers in Bioscience*, 8(1): 143-169. doi: 10.2741/757
- Aures, D., Håkanson, R. y Schauer, A. (1968). Histidine decarboxylase and DOPA decarboxylase in the rat stomach. *European Journal of Pharmacology*, 3(3): 217-234
- Benitez, A. (2018). Valor nutricional de subproductos de origen marino en alimentos para juveniles de jurel *Seriola rivoliana* (Valenciennes, 1833). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
- Booth, M.A., Allan, G.L. y Pirozzi, I. (2010). Estimation of digestible protein and energy requirements of yellowtail king fish *Seriola lalandi* using a factorial approach. *Aquaculture*, 307(3): 247-259. doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.07.019
- Booth, M.A. y Pirozzi, I. (2022). The digestible histidine requirement of juvenile yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. *Aquaculture*, 548(P1): 737543. doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.737543
- Brosnan, M.E. y Brosnan, J.T. (2020). Histidine metabolism and function. *Journal of Nutrition*, 150: 2570S-2575S. doi: 10.1093/jn/nxaa079
- Buettner, G.R. y Jurkiewicz, B.A. (1996). Catalytic metals, ascorbate and free radicals: combinations to avoid. *Radiation Research*, 145(5): 532-541. doi: doi.org/ 10.2307/3579271
- Bury, N.R., Walker, P.A. y Glover, C.N. (2003). Review Nutritive metal uptake in teleost fish. *The Journal of experimental biology*, 206: 11-23. doi: 10.1242/jeb.00068
- Córdova-Criollo, C.A. (2015). Evaluación físico-químico proximal en las especies hidrobiológicas de mayor consumo en la ciudad de Piura 2015. Universidad Nacional de Piura
- Creeth, J.M., Cooper, B., Donaldt, A.S.R., Clamp, J.R., Infirmary, B.R. y Bs, B. (1983). Studies of the limited degradation of mucus glycoproteins The effect of dilute hydrogen peroxide. *Biochemical Journal*, 211(2): 323-332
- Cruz, I. (2019). Evaluación de microalgas endémicas para el cultivo y enriquecimiento de presas vivas y su aplicación en la primera alimentación de *Seriola rivoliana*. CIBNOR
- De Marco, A. y Roubelakis-Angelakis, K.A. (1996). The complexity of enzymic control of hydrogen peroxide concentration may affect the regeneration potential of plant protoplasts. *Plant Physiology*, 1(110): 137-145
- Djellarta, A. (2021). Advances in greater amberjack (*Seriola dumerili*, Risso, 1810) larval husbandry: nutrition, rearing systems and weaning protocols Adnane Djellata Doctoral Thesis University of Las Palmas de Gran Canaria: Universidad de las Palmas de Gran Canaria
- Dolan, E., Saunders, B., Charles, R., Eduardo, J., Wilken, P., John, D., Sale, C. y Gualano, B. (2019). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A Comparative physiology investigations support a role for histidine- containing dipeptides in intracellular acid – base regulation of skeletal. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 234: 77-86. doi: 10.1016/j.cbpa.2019.04.017
- Domínguez, D., Robaina, L., Zamorano, M.J. y Karalazos, V. (2019). Effects of zinc and manganese sources on gilthead seabream (*Sparus aurata*) fingerlings. *Aquaculture*, 505: 386-392. doi:

- 10.1016/j.aquaculture.2019.03.004
- Erickson, M.C. y Hultin, H.O. (1988). A unique role of histidine in Fe-catalyzed lipid oxidation by fish sarcoplasmic reticulum. En: *Oxygen Radicals in Biology and Medicine* Springer US, Boston, MA, pp 307-312
- Espinoza, N., Escala, E., Blacio, E. y Pedro, S. (2009). Estudio de la factibilidad técnica y económica del cultivo de huayaípe (*Seriola rivoliana*) en piscinas con y sin geomembranas Guayaquil
- Faiz, H., Zuberi, A., Nazir, S., Rauf, M. y Younus, N. (2015). Zinc oxide , zinc sulfate and zinc oxide nanoparticles as source of dietary zinc: comparative effects on growth and hematological indices of juvenile Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*). *International Journal of Agriculture & Biology*, 17(3): 568-574. doi: 10.17957/IJAB/17.3.14.446
- FAO. (2024a). the state of world fisheries and Aquaculture 2024– Blue Transformation in action. Roma. ISBN: 9789251387634
- FAO. (2024b). La producción pesquera y acuícola mundial alcanza un nivel sin precedentes. In: Inf. la FAO. Disponible en: <https://www.fao.org/newsroom/detail/fao-report-global-fisheries-and-aquaculture-production-reaches-a-new-record-high/es>. [consulta: 8 abril 2026]
- FAO. (2024c). FishStatJ: Universal software for fishery and aquaculture statistical time series
- FAO. (2010). Cultured Aquatic Species Information Programme: *Seriola quinqueradiata* (Japanese amberjack) Disponible en: https://www.fao.org/fishery/docs/CDrom/aquaculture/I1129m/file/en/en_japaneseamberjack.htm [consulta: 8 abril 2026]
- Feng, L., Zhao, B. y Chen, G. (2013). Effects of dietary histidine on antioxidant capacity in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Fish Physiology and Biochemistry*, 39(3): 559-571. doi: 10.1007/s10695-012-9719-9
- Fernández-Montero, Á., Torrecillas, S., Izquierdo, M., Caballero, M.J., Milne, D.J., Secombes, C.J., Sweetman, J., Da Silva, P., Acosta, F. y Montero, D. (2019). Increased parasite resistance of greater amberjack (*Seriola dumerili* Risso 1810) juveniles fed a cMOS supplemented diet is associated with upregulation of a discrete set of immune genes in mucosal tissues. *Fish and Shellfish Immunology*, 86: 35-45. doi: 10.1016/j.fsi.2018.10.034
- Fernández-Palacios, H., Schuchardt, D., Roo, J., Hernández-Cruz, C. y Izquierdo, M. (2015a). Spawn quality and GnRHα induction efficiency in longfin yellowtail (*Seriola rivoliana*) broodstock kept in captivity. *Aquaculture*, 435: 167-172. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.09.021
- Fernández-Palacios, H., Schuchardt, D., Roo, J., Hernández-Cruz, C.M. y Izquierdo, M. (2015b). Multiple GnRHα injections to induce successful spawning of wild caught greater amberjack (*Seriola dumerili*) matured in captivity. *Aquaculture Research*, 46(7): 1748-1759. doi: 10.1111/are.12330
- Galindo-Villegas, J., Garcia-Garcia, E. y Mulero, V. (2016). Role of histamine in the regulation of intestinal immunity in fish. *Developmental and Comparative Immunology*, 64: 178-186. doi: 10.1016/j.dci.2016.02.013
- Gao, Y.-J., Liu, Y.J., Chen, X.Q., Yang, H.J., Li, X.F. y Tian, L.X. (2016). Effects of graded levels of histidine on growth performance, digested enzymes activities, erythrocyte osmotic fragility and hypoxia-tolerance of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture*, 452: 388-394. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.11.019
- Glover, C.N. y Hogstrand, C. (2002). Amino acid modulation of in vivo intestinal zinc absorption

- in freshwater rainbow trout. *Journal of Experimental Biology*, 205(1): 151-158
- Glover, C.N. y Hogstrand, C. (2003). Effects of dissolved metals and other hydromineral ions on *in vivo* intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, 62: 281-293
- Hipkiss, A.R., Preston, J.E., Himsworth, D.T.M. y Worthington, V.C. (2010). Pluripotent protective effects of carnosine, a naturally occurring dipeptide. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 854(1): 37-53. doi: doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09890.x
- Hirasawa, N. (2019). Expression of histidine decarboxylase and its roles in inflammation. *International Journal of Molecular Sciences Review*, 20(2): 376
- Hossain, S., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Sony, N.M., Islam, J., Maekawa, M. y Fujieda, T. (2018). Substitution of dietary fishmeal by soybean meal with inosine administration influences growth, digestibility, immunity, stress resistance and gut morphology of juvenile amberjack *Seriola dumerili*. *Aquaculture*, 488: 174-188. doi:10.1016/j.aquaculture.2018.01.037
- Humason. (1997). *Animal Tissue Techniques*. , 5th ed. USA
- Jiang, W., Feng, L., Qu, B., Wu, P. y Kuang, S. (2016). Fish & Shellfish Immunology Changes in integrity of the gill during histidine deficiency or excess due to depression of cellular antioxidant ability, induction of apoptosis, inflammation and impair of cell-cell tight junctions related to Nrf2, TOR . *Fish and Shellfish Immunology*, 56: 111-122. doi: 10.1016/j.fsi.2016.07.002
- Johansson, L.H. y Borg, L.A. (1988). A Spectrophotometric Method for Determination of Catalase Activity in small tissue samples. *Analytical Biochemistry*, 174: 331-336. doi: 10.1016/0003-2697(88)90554-4
- Kim, J.J. y Khan, W.I. (2013). Goblet Cells and Mucins: Role in Innate Defense Enteric Infections. 2: 55-70. doi: 10.3390/pathogens2010055
- Klein, R.G. y Halver, J.E. (1970). Nutrition of salmonoid fishes: Arginine and histidine requirements of Chinook and coho salmon. *The Journal of nutrition*, 100(9): 1105-1109. doi: 10.1093/jn/100.9.1105
- Laidley, B.C.W., Shields, R.J. y Ostrowski, A.C. (2020). Amberjack culture progresses at Oceanic. In: Glob. Aquac. Advocate. Disponible en: <https://www.globalseafood.org/advocate/amberjack-culture-progresses-at-oceanic-institute/>. [consulta: 5 abril 2026]
- Lall, S.P. y Kaushik, S.J. (2021). Nutrition and metabolism of minerals in fish. *Animals*, 11(9): 1-41. doi: 10.3390/ani11092711
- Levy, D. y Frondoza, C. (1983). Immunity to intestinal parasites: role of mast cells and goblet cells. *Federation proceedings*, 42: 1750-1755
- Li, Y., Cheng, Z., Mai, K., Ai, Q. y Shi, J. (2014). Dietary histidine requirement for juvenile large Yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. *Isr J Aquac.* doi: 10.5555/20153048860
- Liang, H., Pao, X., Gangchun, X., Zhang, L., Dongyu, H., Mingchun, R. y Lu, Z. (2022). Histidine deficiency inhibits intestinal antioxidant capacity and induces intestinal endoplasmic-reticulum stress , inflammatory response , apoptosis , and necroptosis in Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*). *Antioxidants*, 11: 1-15. doi: 10.3390/antiox11122399
- Liao. (2013). Evidence for a functionally important histidine residue in human tyrosine hydroxylase. *chemistry central journal*, 9(3): 285-292. doi: 10.1007/BF00805959
- Liu, Z.-Y., Yang, H.-L., Hu, L.-H., Yang, W., Ai, C.-X. y Sun, Y.-Z. (2021). Dose-dependent effects of histamine on growth, immunity and intestinal health in juvenile grouper (*Epinephelus*

- coioides*). *Frontiers in Marine Science*, 8: 1-14. doi: 10.3389/fmars.2021.685720
- Lönnerdal, B. (2000). Zinc and health: current status and future directions dietary factors influencing zinc absorption. *The Journal of nutrition*, 130: 1378-1383. doi: doi:10.1093/jn/130.5.1341S.
- Macías-Reyes, L.Y., Maldonado-García, D., Tovar-ramírez, D., Spanopoulos-Zarco, M.A., Omont, A. y Maldonado-García, M. (2025). Histidine as a key nutrient for enhancing reproductive performance and larval survival in marine fish : a mechanistic review. Springer International Publishing. ISBN: 0123456789. doi: 10.1007/s10499-025-02185-4
- Marin, F., Corstjens, P., De Gaulejac, B., De Vrind-De Jong, E. y Westbroek, P. (2000). Mucins and molluscan calcification: Molecular characterization of mucoperlin, a novel mucin-like protein from the nacreous shell layer of the fan mussel *Pinna nobilis* (Bivalvia, Pteriomorphia). *Journal of Biological Chemistry*, 275(27): 20667-20675. doi: 10.1074/jbc.M003006200
- Mazón-Suástegui, J.M., Salas-Leiva, J., Teles, A. y Tovar-Ramírez, D. (2018). Immune and antioxidant enzyme response of longfin Yellowtail (*Seriola rivoliana*) juveniles to ultra-diluted substances derived from phosphorus, silica and pathogenic *Vibrio*. *Homeopathy*, 108(1): 43-53. doi: 10.1055/s-0038-1672197
- McCords, J.M. y Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase. *The journal of biological chemistry*, 244(22): 6049-6055. doi: 10.1016/S0021-9258(18)63504-5
- Midura, R.J. (1996). Bone sialoprotein—a mucin in disguise? *Glycobiology*, 6(7): 677-681
- Monge-Ortiz, R., Tomás-Vidal, A., Gallardo-Álvarez, F.J., Estruch, G., Godoy-Olmos, S., Jover-Cerdá, M. y Martínez-Llorens, S. (2018). Partial and total replacement of fishmeal by a blend of animal and plant proteins in diets for *Seriola dumerili*: Effects on performance and nutrient efficiency. *Aquaculture Nutrition*, 24(4): 1163-1174. doi: 10.1111/anu.12655
- Moro, J., Tome, D., Schmidely, P., Demersay, T. y Azzout-Marniche, D. (2020). Histidine: a systematic review on metabolism and physiological effects in human and different animal species. *Nutrients*, 12: 1-20. doi: 10.3390/nu12051414
- Mulero, I., Sepulcre, M.P., Meseguer, J., García-Ayala, A. y Mulero, V. (2007). Histamine is stored in mast cells of most evolutionarily advanced fish and regulates the fish inflammatory response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(49): 19434-19439. doi: 10.1073/pnas.0704535104
- Nakada, M. (2008). Capture-based aquaculture of yellowtail. En: Lovatelli, A.; Holthus PF (ed) Capture-based aquaculture. Global overview FAO, Rome, pp 199–215
- Naylor, R.L., Hardy, R.W., Buschmann, A.H., Bush, S.R., Cao, L., Klinger, D.H. y Troell, M. (2021). A 20-year retrospective review of global aquaculture. *Nature*, 591(7851): 551–563. doi: 10.1038/s41586-021-03308-6
- OCDE. y FAO. (2024). Perspectivas agrícolas OCDE-FAO 2024-2033. Disponible en: https://www.oecd.org/content/dam/oecd/es/publications/reports/2024/07/oecd-fao-agricultural-outlook-2024-2033_e173f332/2b0c9d81-es.pdf [consulta: 3 marzo 2026]
- Ogata, H. (2002). Muscle buffering capacity of yellowtail fed diets supplemented with crystalline histidine. *Journal of Fish Biology*, 61(6): 1504-1512. doi: 10.1006/jfbi.2002.2169
- Ogino, C. y Guang-Yang, Y. (1978). Requirement of rainbow trout for dietary zinc. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 44(9): 1015-1018. doi: doi.org/10.2331/suisan.44.1015
- Olson, J.S., Mathews, A.J., Rohlf, R.J., Springer, B.A., Egeberg, K.D., Sligar, S.G., Tame, J., Renaud, J.P. y Nagai, K. (1988). The role of the distal histidine in myoglobin and haemoglobin. *Nature*,

- 336(6196): 265-266. doi: 10.1038/336265a0
- Peachey, B.L., Scott, E.M. y Gatlin, D.M. (2018). Dietary histidine requirement and physiological effects of dietary histidine deficiency in juvenile red drum *Sciaenop ocellatus*. *Aquaculture*, 483: 244-251. doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.10.032
- Peterson, J.W., Boldogh, I., Popov, V.L., Saini, S.S. y Chopra, A.K. (1998). Anti-inflammatory and antisecretory potential of histidine in Salmonella-challenged mouse small intestine. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 78(5): 523-534
- Peterson, J.W., King, D., Ezell, E.L., Rogers, M., Gessell, D., Hoffpauer, J., Reuss, L., Chopra, A.K. y Gorenstein, D. (2001). Cholera toxin-induced PGE2 activity is reduced by chemical reaction with l-histidine. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1537(1): 27-41. doi: [https://doi.org/10.1016/S0925-4439\(01\)00052-7](https://doi.org/10.1016/S0925-4439(01)00052-7)
- Picchiatti, S., Fausto, A.M., Randelli, E., Carnevali, O., Taddei, A.R., Buonocore, F., Scapigliati, G. y Abelli, L. (2009). Early treatment with *Lactobacillus delbrueckii* strain induces an increase in intestinal T-cells and granulocytes and modulates immune-related genes of larval *Dicentrarchus labrax* (L.). *Fish and Shellfish Immunology*, 26(3): 368-376. doi: 10.1016/j.fsi.2008.10.008
- Pirozzi, I., Rubio, M., Booth, M., Stephens, P. y Beach, T. (2019). Protein , amino acid and energy utilisation of juvenile Yellowtail Kingfish (*Seriola lalandi*): Quantifying abiotic influences. *Aquaculture*, 513(July): 734439. doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.734439
- Reyes-Medrano, I. (2014). Evaluación del efecto de la temperatura en el crecimiento, digestibilidad y las enzimas digestivas de juveniles de jurel cola amarilla (*Seriola lalandi dorsalis*). CICESE
- Reznik, N., Gallo, A.D., Rush, K.W., Javitt, G., Fridmann-Sirkis, Y., Ilani, T., Nairner, N.A., Fishilevich, S., Gokhman, D., Chacón, K.N., Franz, K.J. y Fass, D. (2022). Intestinal mucin is a chaperone of multivalent copper. *Cell*, 185(22): 4206-4215.e11. doi: 10.1016/j.cell.2022.09.021
- Rhodes, J.D., Breck, O., Waagbo, R., Bjerkas, E. y Sanderson, J. (2010). N -acetylhistidine, a novel osmolyte in the lens of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). 229: 1075-1081. doi: 10.1152/ajpregu.00214.2010.
- Roo, J., Fernández-Palacios, H., Hernández-Cruz, C.M., Mesa-Rodriguez, A., Schuchardt, D. y Izquierdo, M. (2014). First results of spawning and larval rearing of longfin yellowtail *Seriola rivoliana* as a fast-growing candidate for European marine finfish aquaculture diversification. *Aquaculture Research*, 45(4): 689-700. doi: 10.1111/are.12007
- Rubino, J.T. y Franz, K.J. (2012). Coordination chemistry of copper pro- teins: how nature handles a toxic cargo for essential function. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 107: 129-143. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2011.11.024. Schu"
- Ruchimat, T., Masumoto, T., Hosokawa, H. y Shimeno, S. (1997). Quantitative methionine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*, 150(1-2): 113-122. doi: 10.1016/S0044-8486(96)01465-2
- Saavedra, M., Pereira, T.G., Ribeiro, L., Barata, M., Candeias-Mendes, A., Conceição, L.E.C. y Pousão-Ferreira, P. (2020). Evaluation of dietary histidine supplementation on meagre, *Argyrosomus regius*, juvenile growth, haematological profile, stress and muscle cellularity. *Aquaculture Nutrition*, 26(4): 1223-1230. doi: 10.1111/anu.13078
- Saera-vila, A., Louie, K.W., Sha, C., Kelly, R.M., Kish, P.E. y Kahana, A. (2018). Extraocular muscle regeneration in zebrafish requires late signals from Insulin-like growth factors. *PLOS ONE*,

- 13(2): 1-17. doi: /doi.org/10.1371/journal.pone.0192214
- Salinas, I., Abelli, L., Bertoni, F., Picchietti, S., Roque, A., Furones, D. y Esteban, M.Á. (2008). Monospecies and multispecies probiotic formulations produce different systemic and local immunostimulatory effects in the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & shellfish immunology*, 25(1-2): 114-123
- Salinas, I., Ding, Y. y Sunyer, J.O. (2022). Mucosal Immunity in Fish. En: Buchmann K, Secombes CJ (eds) *Principles of Fish Immunology.*, 1.^a ed. Springer, Cham., Switzerland, pp 387-443
- Sheehan, D.C. y Hrapchak, B.B. (1980). *Theory and Practice of Histotechnology.* , 2nd ed. ed. Mosby, St. Louis. ISBN: 0801610155
- Son, D.O., Satsu, H. y Shimizu, M. (2005). Histidine inhibits oxidative stress- and *TNF-α*-induced *interleukin-8* secretion in intestinal epithelial cells. *FEBS Letters*, 579(21): 4671-4677. doi: 10.1016/j.febslet.2005.07.038
- Song, B.C., Joo, N., Aldini, G. y Yeum, K. (2014). Biological functions of histidine-dipeptides and metabolic syndrome. *Nutrition Research and Practice*, 8(1): 3-10. doi: 10.4162/nrp.2014.8.1.3
- Spry, D.I., Hodson, P. V. y Wood, C.M. (1988). Reative contributions of dietary and waterborne zinc in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 45: 32-41. doi: 10.1139/f83-173.
- Suyama, M. y Yoshisawa, Y. (1973). Free amino acid composition of the skeletal muscle of migratory fish. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, (39): 1339–1343. doi: 10.2331/suisan.39.1339
- Suzuki, T., Hirano, T. y Suyama, M. (1987). Free imidazole compounds in white and dark muscles of migratory marine fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 87(3): 615–619. doi: 10.1016/0305-0491(87)90060-5
- Taj, S., Ma, L., Wu, X., Ye, B., Geng, L., Zhou, Z., Wang, X. y Mu, W. (2022). Effects of Dietary Histidine Levels on Growth Performance, Feed Utilization, and Expression of Related Genes of Juvenile Hybrid Grouper *Epinephelus fuscoguttatus* ♀×*Epinephelus lanceolatus*♂. *Aquaculture Nutrition*, 2022: 1-13. doi: 10.1155/2022/7738843
- Takakuwa, F., Fukada, H., Hosokawa, H. y Masumoto, T. (2006). Optimum digestible protein and energy levels and ratio for greater amberjack *Seriola dumerili* (Risso) fingerling. *Aquaculture Research*, 37(15): 1532-1539. doi: 10.1111/j.1365-2109.2006.01590.x
- Tan, L.N., Feng, L., Liu, Y., Jiang, J., Jiang, W.D., Hu, K., Li, S.H. y Zhou, X.Q. (2011). Growth, body composition and intestinal enzyme activities of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of dietary zinc. *Aquaculture Nutrition*, 17(3): 338-345. doi: 10.1111/j.1365-2095.2010.00793.x
- Teles, A. (2019). Impacto de la administracion de levaduras vivas sobre el crecimiento, diferenciacion celular y desarrollo del esqueleto en larvas de *Seriola rivoliana*.
- Teles, A., Alvarez-gonz, C.A., Llera-herrera, R., Gisbert, E., Salas-leiva, J., Rodríguez-jaramillo, C. y Tovar-ramírez, D. (2022). *Debaryomyces hansenii* CBS 8339 promotes larval development in *Seriola rivoliana*. *Aquaculture*, 560: 738587. doi: 10.1016/j.aquaculture.2022.738587
- Valenti, W., Janaina M., K. y Bruno, de I. preto. (2011). Measuring aquaculture sustainability. *World Aquaculture*, 42(3): 26-30
- Vaughan-Jones, R.D., Spitzer, K.W. y Swietach, P. (2009). Intracellular pH regulation in heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 43(3): 318-331
- Vlasits, J., Jakopitsch, C., Schwanninger, M., Holubar, P. y Obinger, C. (2007). Hydrogen peroxide

- oxidation by catalase-peroxidase follows a non-scrambling mechanism. *FEBS letters*, 2(581): 2007. doi: 10.1016/j.febslet.2006.12.037
- Wade, A.M. y Tucker, H.N. (1998). Antioxidant characteristics of L-histidine. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 9(6): 308-315. doi: 10.1016/s0955-2863(98)00022-9
- Warner, H.R. (1994). Superoxide dismutase, aging, and degenerative disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 3: 249-258. doi: 10.1016/0891-5849(94)90080-9
- Watanabe, K. y Yoshimizu, M. (2000). Disinfection of viral nervous necrosis virus contaminated fertilized barfin flounder egg by ozonated sea water. *Nippon suisan gakkaiishi*, 66, 1066-1067 watanabe,K & Yoshimizu, M. 2000. *Nippon suisan gakkaiishi*, 66(6): 1066-1067. doi: 10.2331/suisan.66.1066
- Wittmann, C., Chockley, P., Singh, S.K., Pase, L., Lieschke, G.J. y Grabher, C. (2012). Hydrogen Peroxide in Inflammation : Messenger , Guide , and Assassin. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012: 0-14. doi: 10.1155/2012/541471
- Yamamoto, K., Kushima, R., Kisaki, O., Fujiyama, Y. y Okabe, H. (2003). Combined Effect of Hydrogen Peroxide Induced Oxidative Stress and *IL-1* fi on *IL-8* Production in CaCo-2 Cells (a Human Colon Carcinoma Cell Line) and Normal Intestinal Epithelial Cells. *Inflammation*, 27(3): 123-128. doi: 10.1023/a:1023813710941
- Yamamoto, T., Matsunari, H., Oku, H., Murashita, K., Yoshinaga, H. y Furuita, H. (2019). Supplemental effects of histidine to fishmeal-based and low-fishmeal diets on the growth performance and tissue free amino acid levels of fingerling yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Aquaculture Science*, 67(4): 367-375. doi: 10.11233/AQUACULTURESCI.67.367
- Yang, Q., Liang, H., Mokrani, A., Ge, X., Ren, M., Ji, K. y Yu, H. (2018). Dietary histidine affects intestinal antioxidant enzyme activities , antioxidant gene expressions and inflammatory factors in juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). *Aquaculture Nutrition*, 25(1): 1-11. doi: 10.1111/anu.12847
- Zehra, S. y Khan, M.A. (2016). Dietary histidine requirement of fingerling *Catla Catla* (Hamilton) based on growth, protein gain, histidine gain, RNA/DNA ratio, haematological indices and carcass composition. *Aquaculture Research*, 47(4): 1028-1039. doi: 10.1111/are.12558
- Zs.-Nagy, I. y Floyd, R.A. (1984). Hydroxyl free radical reactions with amino acids and proteins studied by electron spin resonance spectroscopy and spin-trapping. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Protein Structure and Molecular*, 790(3): 238-250. doi: 10.1016/0167-4838(84)90028-1

11. ANEXOS

Anexo A.-Artículo publicado.-Histidine as a key nutrient for enhancing reproductive performance and larval survival in marine fish: a mechanistic review.

Aquaculture International (2025) 33:527 <https://doi.org/10.1007/s10499-025-02185-4>

REVIEW



Histidine as a key nutrient for enhancing reproductive performance and larval survival in marine fish: a mechanistic review

Lizabeth Y. Macías-Reyes¹ · Minerva C. Maldonado-García¹ ·
Milton Spanopoulos-Zarco² ·  Daríel Tovar-Ramírez¹ · Alexia Omont² ·
Deneb Maldonado-García³

Received: 4 June 2025 / Accepted: 4 August 2025

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Switzerland AG 2025, corrected publication 2025

Abstract

The early larval stage in marine fish is characterized by high mortality rates, principally due to heightened sensitivity to environmental and nutritional factors that impair adaptive capacity. Broodstock nutritional condition stands as a pivotal factor influencing larval survival, with histidine identified as a key nutrient that substantially enhances reproductive performance in marine species. This review synthesizes current knowledge on the mechanisms by which dietary histidine improves reproductive outcomes and offspring viability. Histidine plays a dynamic and multifunctional role throughout reproduction. Initially, it facilitates the mobilization of muscle reserves to meet increased metabolic demands, supporting energy production, pH regulation, and antioxidant defense during gonadal development. As maturation progresses, histidine actively contributes to ovarian maturation by participating in vitellogenin synthesis and osmolyte regulation for oocyte hydration, while providing antioxidant protection against oxidative stress during gametogenesis. In males, histidine enhances sperm motility and function through its dual role as an energy substrate and antioxidant. Although evidence suggests histidine content in eggs influences embryonic viability, further research is needed to elucidate these mechanisms. Dietary histidine supplementation in broodstock has been shown to significantly improve fertility, gonadal quality, and larval survival, underscoring its potential as a functional aquafeed additive. Juvenile studies further demonstrate histidine's beneficial effects on health and stress resilience at appropriate inclusion levels. These findings collectively highlight histidine as a strategic dietary component that supports the reproductive continuum from muscle reserve mobilization to embryonic development, ultimately enhancing reproductive success and sustainability in marine fish aquaculture.

Keywords Histidine · Reproductive performance · Metal chelation · Nutritional modulation

Handling Editor: Brian Austin

Extended author information available on the last page of the article

Published online: 30 August 2025

 Springer

Introduction

Reproduction remains a critical bottleneck in fish aquaculture, where captive conditions compromise broodstock physiology, diminishing spawning volume, fertilization success, and hatching rates (Zupa et al. 2017; Zhu et al. 2020). Early larval mortality, predominantly occurring within the first 20 days post-hatching, arises from underdeveloped digestive capacity during the transition to exogenous feeding. Asynchronous hatching and differential digestive system development induce size heterogeneity that precipitates cannibalism in predatory species, driving first-month survival rates below 11% (Izquierdo et al. 2001; Mylonas et al. 2004; Moran et al. 2007; Henrotte et al. 2010; Samaee et al. 2010; Rodríguez-Barreto et al. 2014; Roo et al. 2014; Fernández-Palacios et al. 2015; Zupa et al. 2017; Stuart et al. 2018).

Gamete quality constitutes a pivotal determinant of reproductive success, with egg biochemical composition directly governing embryonic development. Yolk-derived amino acids and lipids sustain larvae until exogenous feeding initiation (Campbell 1992; Papandroulakis et al. 2005). During gametogenesis, reproductive organs commandeer somatic nutrient reserves of amino acids and lipids (Rodríguez-Barreto et al. 2014; Zupa et al. 2017; Zhu et al. 2020). Captive broodstock exhibit lower reproductive performance than wild counterparts despite being fed high-quality fresh or frozen diets, which lack the nutritional diversity of natural food sources (Rodríguez-Barreto et al. 2014; Zupa et al. 2017).

Functional dietary additives, including vitamins, minerals, amino acids, fatty acids, and pigments, demonstrate potential to enhance reproductive performance (Vassallo-Agius et al. 2001; Matsunari et al. 2006; Rodríguez-Barreto et al. 2014; Roo et al. 2014; Stuart et al. 2018; Salze et al. 2019; Sarih et al. 2019; Hernández de-Dios et al. 2022). Amino acid profiles in fish gametes correlate directly with sperm quality and fertilization success (Lahnsteiner 2009; Qari et al. 2013). Among these, histidine exerts particularly significant effects on marine fish reproductive performance (Sarih 2019; Sarih et al. 2019; Djellarta 2021) through multiple interconnected metabolic pathways.

The functional versatility of histidine originates from its imidazole ring structure, which enables participation in diverse enzymatic and regulatory processes. Specifically, histidine: (1) modulates inflammation and immune function through histamine conversion (Galindo-Villegas et al. 2016); (2) acts as an antioxidant and pH buffer in both free form and as carnosine derivatives (Abe 2000); (3) supports energy metabolism via the tricarboxylic acid cycle (Torres et al. 2023); (4) serves as a precursor for purine and pyrimidine biosynthesis; (5) contributes to hormone synthesis during gonadal maturation (Brosnan and Brosnan 2020). While the precise mechanisms by which histidine enhances marine fish reproduction require further investigation, a comprehensive analysis of these pathways will be presented in the '[Biological functions and metabolism of histidine in fish](#)' section of this review.

This review examines histidine's role in viable offspring production through two analytical approaches. The first section analyzes histidine distribution and function in reproductive tissues using Figs. 3, 4, 5, 6, 7, and 8 and Table 1. The second section evaluates dietary histidine inclusion strategies to improve broodstock condition and reproductive performance, presented in Figs. 9 and 10 and Table 2. By integrating these perspectives, we sought to elucidate histidine's role and capacity to enhance reproductive outcomes in captive marine fish populations and bridge the reproductive performance gap between captive and wild populations.

Table 1 Composition of free essential amino acids in gonadal tissues during reproductive stage ($\mu\text{g}/\text{mg}$) (Wood et al. 1960; Qari et al. 2013; Gao et al. 2019; Zhu et al. 2020)

Essential amino acids		Species	Stage	His	Iso	Leu	Lys	Met	Phe	Thr	Try	Val
Female	<i>A. sinensis</i>	<i>O. nerka</i>	2	0.81	0.52	1.01		0.26	0.59	0.67		0.68
			2	0.067								
			3	0.052								
			4	0.037								
	<i>R. sarba</i>		4	136.9	52.6	1336.1	328.3	251.3	66.2	124.2	131	84.6
			5	135.5	130	817	225	144.1	104.8	179	73.8	239.1
			2	3.2	6	8.1	7.9	2.7	5.2	6.8		8.9
			3	3.4	5.8	8.3	8.5	2.9	5.4	6.6		8.4
	<i>A. sapidissima</i>		4	2.8	6	9.3	7.7	2.7	5.1	6.6		8.4
			5	3.1	6.4	11.4	7.6	3	5.5	6.5		10.3
			6	3.1	6.4	9.8	7.6	3	5.4	7.4		9.2
			2	0.42	0.41	0.92		0.25	0.52	0.61		0.52
Male	<i>A. sinensis</i>	<i>O. nerka</i>	2	0.196								
			3	0.152								
			4	0.067								
			4	318.8	56.4	193.3	54.2	64.1	53.6	96.8	169.8	73.8
	<i>R. sarba</i>		5	288.9	50.5	223.2	51.6	81.4	68.9	114.7	137.8	90.3

Table 1 (continued)

Non-essential amino acids		Species	Stage	Ala	Arg	Asp	Asx	Glu	Gly	Pro	Ser	Tyr
Female	<i>A. sinensis</i>		2	1.01	0.79		1.38	1.73	0.73		0.71	0.46
			4	123.4	83.8	101.7		53.2	195.1	54.9	445.1	61.8
			5	157.2	259	106.8		47.2	222.8	83.1	539.4	29.1
	<i>A. sapidissima</i>		2	8.3	7.1		10	12.3	7.1		5.2	5.5
			3	7.6	6.8		10.2	14.2	7.3		5.6	5.5
			4	8.5			10.2	12.9	7.4		5.7	5.4
Male	<i>A. sinensis</i>		5	9.2			12.5	15	8.2		5.8	5.9
			6	8.8			11.5	15.7	8.3		5.6	6.3
			2	1.43	1.51		1.48	1.99	2.54		0.94	0.29
	<i>R. sarba</i>		4	524.2	323	1102		217.3	170.5	39.1	170.2	94.6
			5	554.1	357	1102		250.3	166.3	51.7	161.9	93.1

Table 2 Summary of histidine feeding trials in juvenile marine fishes: experimental parameters and the minimum effective inclusion. Data compiled from published studies (Klein and Halver 1970; Ogata 2002; Li et al. 2014; Zehra and Khan 2015; Peachey et al. 2018; Yamamoto et al. 2019; Saavedra et al. 2020; Ramos-Pinto et al. 2021; Booth and Pirozzi 2022)

Author	Common and scientific name	Initial weight (g)	Culture time (days)	Evaluated inclusion level (% DW)	Minimum effective inclusion
Ramos-Pinto 2021	Gilthead Seabream (<i>S. aurata</i>)	7.3	30	0.4	0.4
Peachey et al. 2018	Red drum (<i>S. ocellatus</i>)	0.98	42	0.48, 0.68, 1.01, 1.27, 1.3	0.68
Zehra et al. 2016	Fingerling (<i>C. catla</i>)	0.65	84	0.53, 0.7, 0.83, 0.96	0.7
Klein et al. 1970	Coho salmon (<i>O. kisutch</i>)	3.1	70	0.7, 0.9, 1.1, 1.3	0.9
Klein et al. 1970	Chinook salmon (<i>O. tshawytscha</i>)	2.9	70	0.7, 0.9, 1.1, 1.4	0.9
Li et al. 2014	Large yellow croaker (<i>P. crocea</i>)	6	51	0.45, 0.66, 0.78, 0.98, 1.24, 1.4	0.98
Booth and Pirozzi 2022	Yellowtail kingfish (<i>S. lalandi</i>)	80	49	0.96, 1.32, 1.61, 2.0	1.6
Yamamoto et al. 2019	Fingerling yellowtail (<i>S. quinqueradiata</i>)	4.6	45	1.12, 1.22, 1.27, 1.89, 1.92	1.92
Ogata 2002	Fingerling yellowtail (<i>S. quinqueradiata</i>)	22	42	2.47	2.47
Saavedra et al. 2020	Meagre (<i>A. regius</i>)	6.2	82	3.8, 6.74	3.8

Biological functions and metabolism of histidine in fish

Overview of histidine's biochemical properties

Histidine is the only naturally occurring essential amino acid that possesses an imidazole group as its side chain (Schneider 1978). Among the 20 standard amino acids, histidine stands out due to its remarkable structural and functional versatility within protein architecture (Martínez 1995; Uchida 2003; Remko 2010; Li et al. 2010). This unique versatility arises from the properties of its imidazole side chain, which is both aromatic and ionizable (Agnieszka et al. 2003).

Histidine contains three ionizable groups: the α -amino group ($pK_a \approx 9.17$), the carboxyl group ($pK_a \approx 1.82$), and the imidazole side chain ($pK_a \approx 6.00$) (Fig. 1), but the imidazole ring, being aromatic, has an isoelectric point at a physiologically relevant pH and exhibits both strong σ -donor and moderate π -acceptor characteristics. Under acidic conditions, the imidazole group accepts protons (H^+), becoming positively charged, whereas in alkaline conditions, it donates protons, reverting to a neutral state. This amphoteric behavior enables histidine to function as both an acid and a base under physiological conditions, classifying it as an ampholyte (Andersen et al. 2016).

This dual functionality is attributed to the polar hydrogen atom capable of serving as a hydrogen bond donor, as well as to the presence of two nitrogen atoms in the imidazole ring, each with distinct donor and acceptor properties that contribute to its chemical flexibility. One of these nitrogen atoms (commonly referred to as N1) acts as a hydrogen bond donor when protonated, while the other nitrogen (N3) functions as a strong electron donor due to its lone electron pair (Smith and March 2007; Liao et al. 2013). This

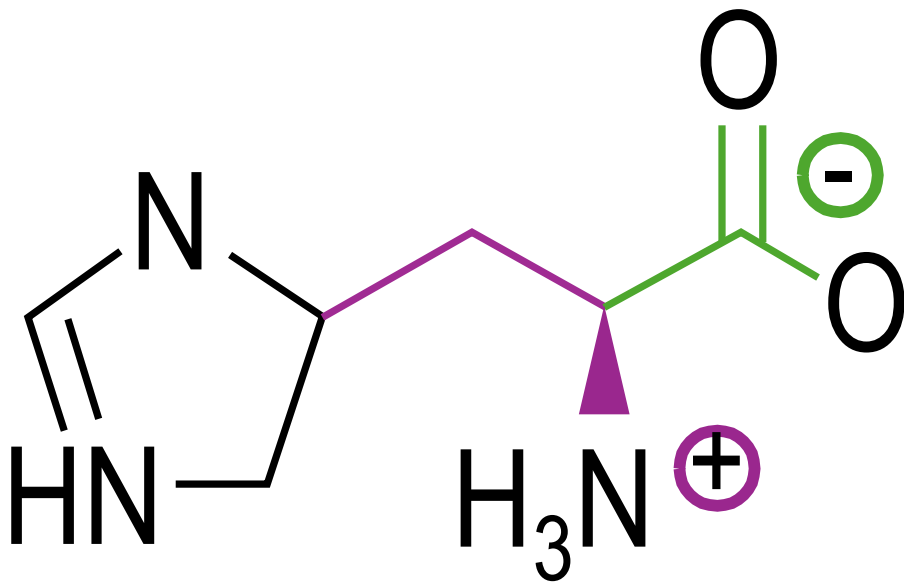


Fig. 1 Chemical structure of histidine highlighting functional groups: α -amino group (blue), carboxyl group (green), and imidazole side chain (black) (Holeček 2020)

structural configuration makes the imidazole ring a favorable site for coordinating metal ions and participating in hydrogen bonding as an acceptor (Krishna Deepak and Sankararamakrishnan 2016).

The imidazole ring coordinates metal ions primarily through the lone electron pairs on its nitrogen atoms, with the N3 position showing particular binding affinity. These coordinate covalent bonds exhibit variable strength and geometry, determined by the metal ion's identity, oxidation state, and ligand count (Kapinos et al. 1998; Li et al. 2024).

Li et al. (2024) computationally analyzed δ -nitrogen protonated imidazole interactions with eleven biologically relevant metal ions (Ag(II), Ca(II), Cd(II), Co(II), Cu(II), Cu(I), Fe(II), Mg(II), Mn(II), Ni(II), and Zn(II)) using the OPC water model. Their results demonstrate that binding free energies correlate strongly with ionic radius and electronic configuration. Larger metal ions generally form stronger interactions, as evidenced by more negative binding free energies, though transition metals exhibit exceptions due to d-orbital electron distributions. These findings establish that metal–imidazole binding strength depends principally on ionic size and electronic configuration.

Extended simulations by Li et al. (2024) examined Co(II), Cu(II), Mn(II), Ni(II), and Zn(II) complexes with one to six imidazole ligands. The data reveal that Ni(II) and Cu(II) spontaneously form stable histidine complexes across all ligand configurations. In contrast, Zn(II) requires multiple imidazole ligands for stable coordination, showing no spontaneous binding with single histidine molecules. This pronounced metal-chelating capacity, stemming from imidazole's biochemical properties, underscores histidine's structural and functional importance in metabolic pathways.

Relevant metabolic pathways

Transport of nutrients

Histidine plays a fundamental role in the structure and function of hemoglobin, particularly in the coordination and stabilization of the heme-bound iron essential for oxygen transport. Within each subunit of hemoglobin, two conserved histidine residues—known as the proximal histidine (F8) and the distal histidine (E7)—are critical to the molecule's functionality. The proximal histidine forms a covalent bond with the ferrous ion (Fe^{2+}) at the center of the heme group, anchoring it securely within the heme pocket and ensuring proper alignment for ligand binding. In contrast, the distal histidine is strategically positioned near the ligand-binding site, where it stabilizes the bound oxygen molecule via hydrogen bonding, thus preventing the oxidation of iron and promoting reversible oxygen binding under physiological conditions (Olson et al. 1988; Poon et al. 2011).

This dual histidine arrangement facilitates efficient oxygen transport while protecting the heme group from toxic ligands like carbon monoxide. The distal histidine dynamically gates ligand access, and in some hemoglobins, both histidines coordinate iron simultaneously to form reversible bis-histidine complexes that precisely regulate ligand affinity and release (Nagai et al. 1987).

The imidazole ring's chemical versatility underpins these mechanisms. Its dual capacity as proton donor/acceptor and conformational flexibility enable precise metal ion coordination and structural transitions during cooperative oxygen binding (Mrozek et al. 2003). This functional adaptability extends beyond hemoglobin to other metalloproteins like myoglobin, highlighting histidine's fundamental role in oxygen delivery systems (Holeček 2020).

Histidine as a physiological pH buffer

Histidine effectively buffers physiological pH, maintaining intracellular homeostasis during metabolic stress such as anaerobic exercise. The imidazole side chain, a nitrogen-containing heterocycle, confers this unique acid–base buffering capacity.

The free imidazole group exhibits a pKa of approximately 6.0, which increases to 7.0–7.1 when incorporated into dipeptides like anserine or carnosine. This range aligns with physiological intracellular pH (typically 6.5–7.1), optimizing histidine's buffering function (Abe 2000; Derave et al. 2010). The Henderson-Hasselbalch equation describes this acid–base behavior, where histidine maintains a dynamic equilibrium between protonated and deprotonated forms near its pKa. At this equilibrium point, roughly equal proportions of each form exist, enabling effective proton buffering.

Muscle contraction generates excess protons (H^+) that induce acidosis. Histidine buffers these protons, attenuating intracellular pH decline and preserving cellular function during prolonged activity (Davey 1960; Skulachev 1978; Hochachka and Mommsen 1983; Somero 1986). Fish and other vertebrates with high endurance or anoxia tolerance demonstrate elevated free histidine and histidine-containing dipeptide concentrations, underscoring their evolutionary significance as a non-bicarbonate buffering system (Abe 2000; Dolan et al. 2019). Unlike the bicarbonate system, this mechanism remains functional during hypoxia or anaerobiosis when CO_2 -dependent buffering becomes limited (Hochachka and Somero 1984).

When integrated into proteins or dipeptides like skeletal muscle carnosine, local chemical environments modulate histidine's pKa, extending its buffering effectiveness. The imidazole ring's chemical structure and near-physiological pKa establish histidine and its derivatives as essential regulators of acid–base balance, particularly in muscle tissue under metabolic stress.

Antioxidant function of histidine and its derivatives

Histidine, whether in free form or incorporated into dipeptides like carnosine and anserine, functions as a potent endogenous antioxidant that mitigates oxidative stress in biological systems. The imidazole ring's chemical versatility enables selective interactions with reactive oxygen and nitrogen species (ROS/RNS), forming the basis of this protective capacity (Kohen et al. 1988). Through transition metal ion chelation, particularly of iron (Fe^{2+}) and copper (Cu^{2+}), histidine prevents their participation in deleterious redox reactions, including Fenton chemistry that generates destructive hydroxyl radicals. This metal-sequestering activity provides critical preventive antioxidant protection (Zs.-Nagy and Floyd 1984; Wade and Tucker 1998).

The imidazole ring directly neutralizes reactive species, including singlet oxygen, superoxide, hydroxyl radicals, and peroxynitrite. Extensive *in vitro* and *in vivo* studies confirm histidine's exceptional scavenging efficiency against hydroxyl radicals, the most damaging ROS (Dahl et al. 1988; Hipkiss 2009; Song et al. 2014). This radical-neutralizing capacity complements its metal-chelating function, creating comprehensive oxidative defense (Abe 2000). Within redox enzymes like catalase, superoxide dismutase (SOD), and peroxidases, histidine's imidazole ring provides optimal metal coordination through its aromaticity and electronic configuration. The resulting reversible binding environment maintains catalytic activity while resisting oxidative damage to enzyme structures (Poon 2011).

These three synergistic mechanisms—metal ion sequestration, direct radical neutralization, and redox enzyme stabilization—establish histidine and its derivatives as essential components of oxidative stress management in aerobic organisms. The compound's multifunctional antioxidant capacity stems from the unique physicochemical properties of its imidazole ring, which enables diverse protective interactions against oxidative damage at multiple biological levels.

Immunological and physiological functions of histamine

Histamine [2-(4-imidazolyl)-ethylamine], a short-acting bioactive amine derived from L-histidine via histidine decarboxylase activity, represents an evolutionarily conserved mediator across vertebrates, including fish, reptiles, birds, and mammals (Baccari et al. 2011; Sundvik et al. 2011; Martinel Lamas et al. 2015). Diverse mucosal cell populations produce this multifunctional compound that critically regulates inflammation, gastric secretion, and neurotransmission (Galindo-Villegas et al. 2016).

In fish, mast cells (MCs) serve as the primary histamine reservoirs, functioning as specialized granulocytic sentinels that coordinate innate immunity through controlled degranulation in response to pathogens, tissue damage, or cellular signals (Csaba 2015; Reber et al. 2015; Oskertizian 2012; Dezfuli and Giari 2008; Mulero et al. 2007; Salim et al. 2012). These immune effector cells, particularly well-characterized in Perciformes, modulate inflammatory responses by regulating phagocyte recruitment and activity (Mulero et al. 2007). While fish lack mammalian-type ILC2s that mediate histamine-dependent anti-helminth defenses, advanced teleosts likely possess analogous mechanisms (Liconá-Limón et al. 2013).

Intestinal MC-derived histamine stimulates mucus production as a frontline defense against parasites while coordinating acute phase responses that may progress to chronic inflammation under persistent stimulation (Alcañiz et al. 2013; Novak et al. 2012; Rossbach et al. 2015; St John and Abraham 2013). This dual capacity to either exacerbate or resolve inflammation reflects histamine's context-dependent roles in tissue damage versus wound healing (Branco 2018).

Beyond immunity, histamine operates along the gut-brain axis, linking intestinal MCs with enteric neurons and visceral afferents (Buhner and Schemann 2012). The compound stimulates gastric acid secretion via parietal cells (Andersson 1998) while hypothalamic neurons utilize histamine as a neurotransmitter with widespread projections (Haas 2008; Sheiner et al. 1985; Watanabe 1984).

These findings establish histamine as an essential bioactive derivative of histidine, with critical functions in immune regulation, neuroendocrine communication, and digestive physiology. The compound's multifunctional nature underscores its physiological importance in fish, particularly for aquaculture applications targeting developmental and reproductive optimization.

Histidine as a substrate for energy production

Histidine plays a key metabolic role as a substrate for cellular energy production (Fig. 2), particularly through its conversion into glutamate and subsequently into α -ketoglutarate, a critical intermediate in the Krebs cycle. As shown in Fig. 2, the catabolism of histidine begins with deamination by the enzyme histidase (1), which is expressed predominantly

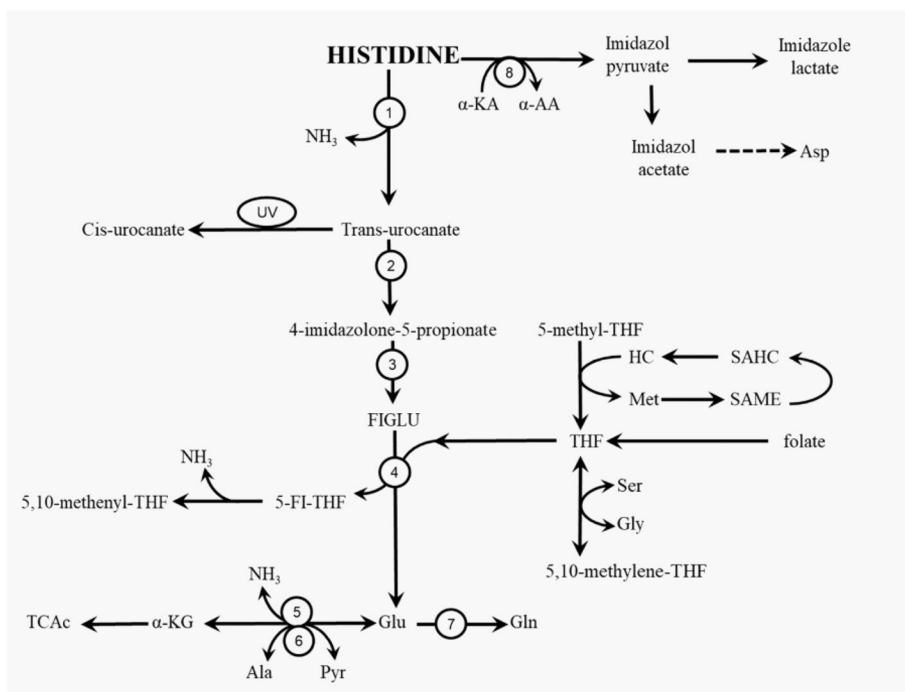


Fig. 2 Metabolic integration of histidine degradation: pathways connecting histidine catabolism to folate-mediated one-carbon metabolism and tricarboxylic acid (Krebs) cycle (Holeček 2020)

in the liver and skin. This enzyme removes the amino group from histidine to form trans-urocanate and ammonia (Mehler and Tabor 1953; Coltorti et al. 1966).

In the liver, trans-urocanate is further metabolized by urocanase (2) into 4-imidazolone-5-propionate, which is then hydrolyzed by imidazolone propionate hydrolase (3) to formiminoglutamate (FIGLU). FIGLU donates its formimino group to tetrahydrofolate (THF) via the action of formiminotransferase (4), releasing glutamate (Glu) and ammonia (Coltorti et al. 1966). Glutamate produced in this way serves multiple metabolic purposes: it may be used for glutamine (Gln) synthesis, released into the blood, or deaminated by glutamate dehydrogenase (5) to form α-ketoglutarate (α-KG), which then enters the tricarboxylic acid cycle (TCA/Krebs cycle) to support ATP synthesis (Coltorti et al. 1966).

Beyond the central pathway, a minor route of histidine degradation is mediated by histidine aminotransferase (8), which converts histidine into imidazole-pyruvate, subsequently leading to aspartate (Asp) or alanine (Ala) formation, depending on the tissue and isoform involved (Holeček 2020).

Altogether, the catabolism of histidine provides multiple metabolic intermediates—glutamate, α-ketoglutarate, alanine, and aspartate—that feed into central energy pathways, especially under conditions of increased protein intake, exercise, or reproductive demand. This highlights histidine's contribution not only to nitrogen metabolism but also to bioenergetic balance in diverse tissues.

Histidine distribution and metabolic dynamics in marine fish reproduction

Muscle tissue

Analysis of all currently published data on muscle amino acid profiles in marine fish brood-stock (encompassing 13 commercially important species; Fig. 3) reveals significant inter-specific variation, with histidine showing the most pronounced differences. Pelagic species *Katsuwonus pelamis* (skipjack tuna) and *Thunnus albacares* (yellowfin tuna) exhibit exceptionally high concentrations ($> 100 \mu\text{mol/g}$), while benthic species *Pagrus major* (red seabream) and *Oplegnathus fasciatus* (barred knifejaw) display markedly lower levels ($< 20 \mu\text{mol/g}$). This distribution pattern correlates with ecological niche and metabolic intensity, as active swimmers require greater histidine reserves for muscle contraction, acid–base regulation, and histamine-mediated signaling during reproduction. These observations confirm Suyama and Yoshizawa's (1973) findings that migratory species accumulate histidine and its derivatives, anserine and carnosine, as major non-protein nitrogen components ($> 50\%$ total), with balenine consistently absent across studied species.

The elevated histidine concentrations in active swimmers likely support multiple physiological demands: (1) muscle contraction energetics, (2) acid–base regulation through imidazole buffering ($\text{pK}_a \approx 6.0\text{--}7.1$), and (3) histamine-mediated cellular signaling during reproduction. During reproductive phases, amino acid mobilization from muscle supports both energy production and the synthesis of reproductive tissues. Histidine serves dual roles as a structural component and histamine precursor, with its abundance in pelagic species suggesting an adaptive strategy to meet the metabolic demands of gonadal development (Mylonas et al. 2004; Matsunari et al. 2006; Zhu et al. 2020). This mobilization profoundly affects body reserves, including lipid and protein stores (Fontana and Torre 2016).

Sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) demonstrate characteristic histidine dynamics during reproduction. Initial muscle concentrations ($\sim 4 \mu\text{mol/g}$) decline to approximately one-fifth of original values during migration (Wood et al. 1960), with white muscle histidine dropping to $< 0.4 \mu\text{mol/g}$, accompanied by elevated levels of alanine and glutamate in red muscle (Fig. 4; Mommsen et al. 1980). This reflects intense catabolism supporting hepatic synthesis and gonadal development (Mommsen 2004). Notably, anserine remains stable ($\sim 40 \mu\text{mol/g}$), suggesting prioritized retention for buffering functions. Seasonal

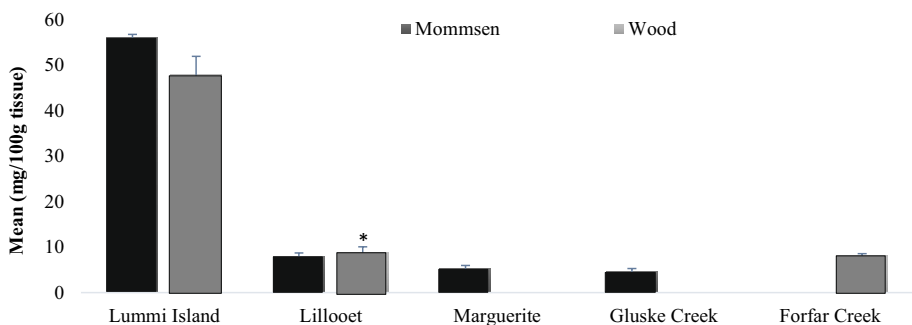


Fig. 3 Amino acid profiles of the muscle of commercial fish (Wood et al. 1960; Mommsen et al. 1980; Gómez-Requeni et al. 2004; Rungruangsak-Torrissen and Fosseidengen 2007; Tanahashi et al. 2014; Thakur et al. 2009; Peng et al. 2013)

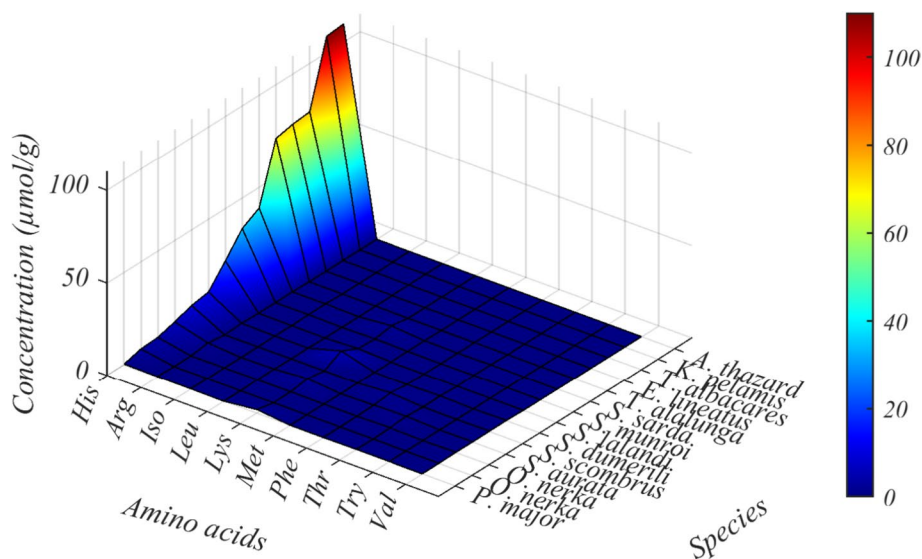


Fig. 4 Histidine concentration in the muscle of *Oncorhynchus nerka* during the spawning migration (Wood et al. 1960; Mommsen et al. 1980). Standard deviations and significant differences at $P=0.01$ (*) are as reported in the original sources. The absence of data reflects that the author did not collect samples for this location

variations show higher histidine and glycine in early-spawning salmon, correlating with carnosine-mediated antioxidant protection (Skjærven et al. 2022). Hernández de Dios et al. (2024) similarly observed conserved histidine predominance in longfin yellowtail (*Seriola rivoliana*) juveniles despite taurine supplementation.

Histidine catabolism involves hepatic conversion to urocanate via histidine ammonia-lyase, with subsequent urocanase-dependent transformation to glutamate (Reilly and Da Fato 1991; Norval et al. 1995). Alanine aminotransferase then generates alanine (Chew et al. 2003), facilitating nitrogen transport to the gonads. This flux peaks during vitellogenesis in Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*), where sarcosine, alanine, and histidine concentrations surge at ovarian stage IV (Zhu et al. 2020). Alanine serves as a key nitrogen shuttle to reproductive tissues which require substantial biochemical input for development and gametogenesis (Rodríguez-Barreto et al. 2012; Miura et al. 2014), while red muscle utilizes glutamate for oxidative phosphorylation (Mommsen et al. 1980).

During lipid mobilization in *A. sinensis*, muscle lipid stores decline significantly across ovarian stages II–IV (Zhu et al. 2020), increasing peroxidation vulnerability. Histidine inhibits Fenton reactions by chelating $\text{Fe}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$ (Wade and Tucker 1998; Andersen et al. 2016) and scavenging radicals (Uchida 2003; Boldyrev et al. 2004), preserving sarcoplasmic reticulum integrity (Erickson and Hultin 1988, 1992; Feng et al. 2013). Complementary iron-detoxification proteins provide additional protection (Wiedenheft et al. 2005).

The imidazole buffering system (histidine, carnosine, anserine) maintains pH homeostasis during anaerobic activity (Ogata et al. 1998; Abe 2000) and thermal stress (Fry 1971; Remo et al. 2011, 2014). While buffering capacity decreases at elevated temperatures (Erickson and Hultin 1992), these compounds prevent muscle acidification during metabolic stress (Ogata 2002). The imidazole ring's dual nitrogen atoms enable proton binding/

release, creating an efficient pH buffer in proteins and dipeptides (Abe 2000; Dolan et al. 2019).

These integrated mechanisms establish histidine as a critical regulator of reproductive physiology through three synergistic functions: meeting energy and nitrogen requirements, providing antioxidant protection, and maintaining pH balance. The consistent depletion patterns in muscle across species (Stuart and Drawbridge 2013; Jirapongpairroj et al. 2015; Marrero 2017; Zupa et al. 2017) reflect its dual role as metabolic substrate and signaling molecule during gametogenesis, highlighting the need to investigate gonadal histidine dynamics.

Histidine dynamics in gonadal tissues

Analysis of amino acid profiles in male and female broodstock across marine species reveals consistent differential mobilization patterns of essential and non-essential amino acids during gonadal development. Obtaining such data from captive species remains challenging due to limited reproductive stock availability in aquaculture operations. Nonetheless, studies on captive Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) provide valuable insights (Zhu et al. 2020), while wild fish investigations supplement our understanding through key studies on gold-lined seabream (*Rhabdosargus sarba*) (Qari et al. 2013), American shad (*Alosa sapidissima*) (Gao et al. 2019), and sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) (Wood et al. 1960) (Table 1).

Sex-specific amino acid distribution shows leucine (essential) and serine (non-essential) predominance in females, contrasting with male predominance of aspartic acid, alanine (non-essential), and histidine (essential). This suggests distinct sex-based metabolic pathways during gonadal development (Zhou et al. 2017). Stage-specific patterns in *A. sinensis* and *A. sapidissima* females reveal glutamic acid and aspartic acid abundance, followed by leucine, valine, and alanine. Males show consistent aspartic acid, histidine, and alanine prominence across stages.

Reproductive metabolic demands drive significant gene expression changes in lipid/amino acid metabolism pathways. This coordinated nutrient mobilization supports vitellogenesis, spermatogenesis, and gamete maturation (Zhu et al. 2020). Among studied species, *O. nerka* exhibits notable histidine depletion during early spawning migration (Fig. 5), remaining low thereafter despite stable non-protein nitrogen compounds (Mommensen et al. 1980). This pattern underscores histidine's reproductive importance, with stage-specific declines observed in *R. sarba* (stage 4→5; Fig. 5, Table 1) but not *A. sapidissima* (Table 1).

In *A. sinensis* ovaries, alanine metabolites, histidine-related compounds, and taurine increase significantly during stage IV embryonic development post-maturation (Zhu et al. 2020). Histidine and alanine may facilitate carnosine synthesis—a β -alanine/L-histidine dipeptide with antioxidant properties (Hipkiss et al. 2010; Remo et al. 2011). Though unconfirmed in fish gonads, carnosine's mammalian gonadal presence (Aydın et al. 2017) and established cytoprotective functions suggest it may protect against oxidative stress during gametogenesis. Both histidine (a potent radical scavenger) and alanine exhibit intrinsic antioxidant capacity (Zs.-Nagy and Floyd 1984; Wade and Tucker 1998; Feng et al. 2013), complemented by taurine's antioxidative role in Japanese eel (*Anguilla japonica*) testes (Higuchi et al. 2012). Alanine additionally functions in carbon/nitrogen transport (Felig 1973).

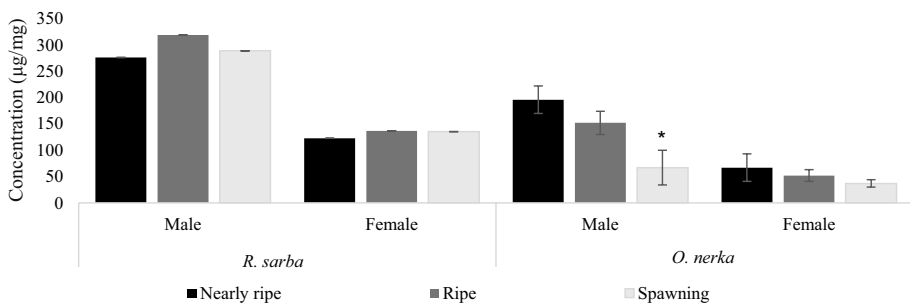


Fig. 5 Gonadal histidine concentrations ($\mu\text{mol/g}$ wet weight) in male and female *Rhabdosargus sarba* and *Oncorhynchus nerka* across reproductive development stages (Wood et al. 1960; Qari et al. 2013). Error bars indicate standard deviation; asterisks (*) denote significant differences between stages at $P=0.01$ as reported in original studies

These metabolic patterns suggest *O. nerka* and *R. sarba* experience heightened reproductive oxidative stress compared to *A. sapidissima*. In female *O. nerka*, histidine proves critical during final maturation: total gonadal content surges at stage IV (Fig. 6), coinciding with oocyte hydration and gonadosomatic index increase. Histidine, arginine, and methionine contribute to vitellogenin synthesis—a yolk precursor essential for hydration (Matsubara et al. 2003; Abdo-de la Parra et al. 2017). While arginine regulates aquaporin channels, histidine scavenges reactive species, countering embryogenic oxidative stress (Valderrama-Díaz 2014). Antioxidant enzymes (superoxide dismutase and catalase) increase during *Brycon amazonicus* embryogenesis, reflecting escalating radical defense needs (Valderrama-Díaz 2014). Such protection neutralizes ROS (O_2^- , H_2O_2) and sequesters pro-oxidant metals (Fe, Cu, and Zn) during vulnerable stages (Halliwell 1999).

Histidine thus fulfills multifaceted gonadal roles: abundant essential amino acid in male gonads; stage-IV surge participant in oocyte hydration; and antioxidant partner to alanine/taurine during gametogenesis. Its metabolic conversion to alanine and glutamate provides osmolytes and energy substrates, while participation in vitellogenin synthesis indirectly supports hydration. The prominence of alanine and glutamate in both sexes highlights their mobilization from muscle to gonads.

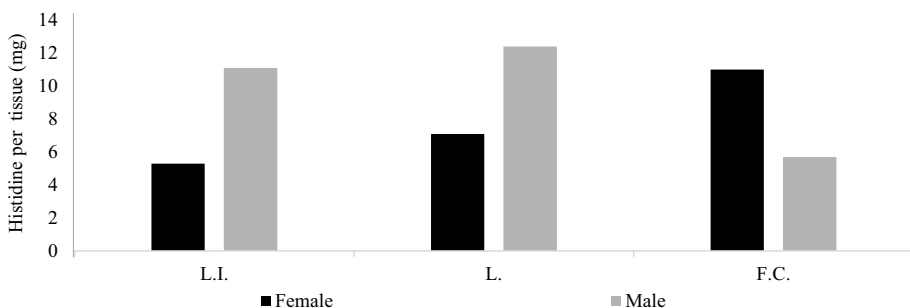


Fig. 6 Non-protein total histidine in gonads from sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) at different migratory locations: Lummi Island (1), Lillooet (2), and Forfar Creek (3) (Wood et al. 1960). The absence of SD indicates that no variability measures were provided

Histidine dynamics in male gametes

Histidine demonstrates significant functional relevance in male gonadal tissue as one of the most abundant essential amino acids, exhibiting marked concentration shifts during reproductive maturation. Its involvement in osmolyte synthesis (e.g., alanine and glutamate), antioxidant defense, and vitellogenin production suggests critical roles in sperm development. However, a knowledge gap persists regarding its presence and function in seminal plasma and sperm cells.

Current literature reveals only three studies reporting fish semen amino acid profiles: common carp (*Cyprinus carpio*) (Billard and Menezo 1984; Lahnsteiner 2009), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Lahnsteiner 2009), and gilthead seabream (*Sparus aurata*) with European perch (*Perca fluviatilis*) (Lahnsteiner 2010). Histidine consistently occurs in low concentrations (<5% total free amino acids; Fig. 7), with arginine, glutamate, and methionine predominating. Notably, *C. carpio* spermatozoa contain threefold higher histidine than seminal plasma, indicating cellular compartmentalization (Lahnsteiner 2009). During 48-h in vitro storage simulations, histidine degrades rapidly alongside lysine and glutamate, coinciding with transaminase and dehydrogenase upregulation, confirming active spermatozoal metabolism of these amino acids for energy (Lahnsteiner 2009). Low methionine sulfoxide reductase activity suggests alternative antioxidant systems protect gametes, potentially involving histidine's radical-scavenging capacity (Moskovitz et al. 2001). Antioxidants are crucial at this stage to counteract oxidative stress and preserve sperm function (Martin-Hidalgo et al. 2019). Fish sperm, rich in polyunsaturated fatty acids (PUFAs), are highly susceptible to lipid peroxidation and, upon losing the protective seminal plasma after release, experience oxidative damage to DNA, midpiece, axoneme, and mitochondria, as well as impaired motility and membrane function, ultimately reducing fertilization potential (De Lamirande and Gagnon 1992; Alvarez and Storey 1995; Saleh and Agarwal 2002; Cabrita et al. 2011; Guthrie and Welch 2012; Nowicka-Bauer and Nixon 2020; Zini et al. 1995).

European eel (*Anguilla anguilla*) studies demonstrate nutritional modulation of sperm quality. Milt with elevated histidine proportions (<2% total FAAs) correlates with improved motility via principal component analysis, clustering with proline/valine and inversely with arginine/lysine (Butts et al. 2020). Contrastingly, *C. carpio* sperm exposed to 5 mmol/L histidine in inhibitory media show reduced viability during prolonged incubation (Lahnsteiner 2009), highlighting context-dependent effects.

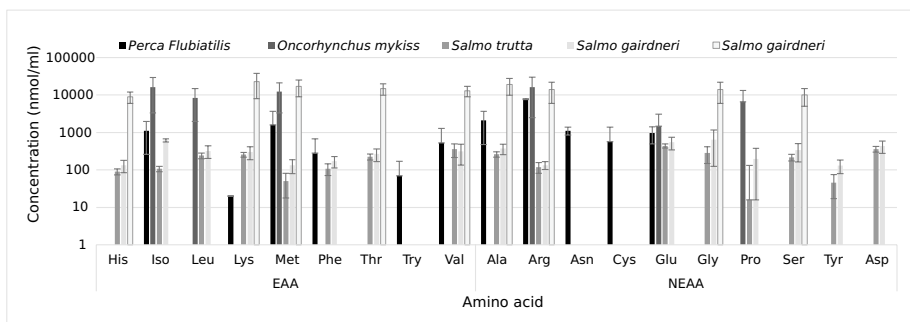


Fig. 7 Amino acid concentration in milt. Bars indicate standard deviation as reported by the original authors (Billard and Menezo 1984; Schmehl et al. 1987; Lahnsteiner 2009, 2010)

These findings imply histidine optimizes sperm function within narrow physiological thresholds, potentially serving as an energy substrate or redox buffer. Nevertheless, mechanistic validation in marine species remains limited, warranting focused research on histidine flux during spermatogenesis and dose–response relationships.

Histidine in oocyte hydration mechanisms

The histidine surge during late oocyte maturation coincides with hydration—a teleost-specific process where oocytes expand > 50% via water influx, enabling embryonic buoyancy. This requires coordinated osmotic gradient generation and aquaporin-mediated water transport (Cerdá et al. 2007), with histidine contributing at molecular, enzymatic, and osmotic levels.

Aquaporins feature conserved NPA (Asn-Pro-Ala) motifs that facilitate selective water permeability (Fujiyoshi et al. 2002; Harries et al. 2004). High glutamic acid and aspartic acid concentrations in Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) and American shad (*Alosa sapidissima*) ovaries (Table 1) provide biochemical precursors: aspartic acid converts to asparagine (NPA component) via glutamine synthetase (Murray et al. 2012). Histidine indirectly supports this process by maintaining redox homeostasis during hydration.

Free amino acids from vitellogenin proteolysis drive osmotic gradients. In *Veraspermoseri*, yolk degradation liberates osmolytes that facilitate water influx (Matsubara and Koya 1997; Ohkubo and Matsubara 2002). Cathepsins D and L mediate this proteolysis, with cathepsin L showing peak activity during mid-vitellogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Sire et al. 1994) and gilthead seabream (*Sparus aurata*) (Carnevali et al. 1999). Prawn (*Macrobrachium nipponense*) studies confirm cathepsin L (Mn-CL2) upregulation in vitellogenic stages, localized to yolk granules (Jiang et al. 2022).

Histidine critically enables cathepsin L function through its catalytic triad position (Cys-His-Asn), acting as a general base during proteolysis (Jiang et al. 2022). Rational inhibitor design demonstrates histidine at peptide P4 positions enhances cleavage efficiency fivefold (Phan et al. 2021). Mammalian studies further reveal cathepsin L processes histidine-rich domains in copper transporters (Öhrvik et al. 2016), suggesting conserved metalloregulatory roles.

Thus, histidine operates synergistically: as a proteolytic product contributing to osmotic gradients, an enzymatic cofactor in yolk processing, and a redox regulator—collectively ensuring efficient hydration while preserving oocyte integrity. Future studies should quantify histidine spatial distribution in oocytes of marine species and characterize its interactions with aquaporin isoforms.

Histidine effects in marine fish egg composition and development

In teleosts, histidine is not one of the most abundant amino acids in the ovary and eggs (Fig. 8) (Ohkubo et al. 2008; Samaee et al. 2010; Lanes et al. 2012; Cruzado et al. 2013; Zakeri et al. 2014; Abdo-de la Parra et al. 2017; Sarih et al. 2019; Kwasek et al. 2014). However, including histidine influences the abundance of other amino acids (Sarih 2019). Sarih (2019) evaluated the influence of three dietary treatments—histidine, taurine, and protein—on broodstock and their progeny. Although histidine itself did not reach high concentrations in fish eggs, its inclusion led to the highest concentrations of amino acids, especially arginine, tyrosine, lysine, alanine, leucine, and glutamic acid (Sarih 2019). Some

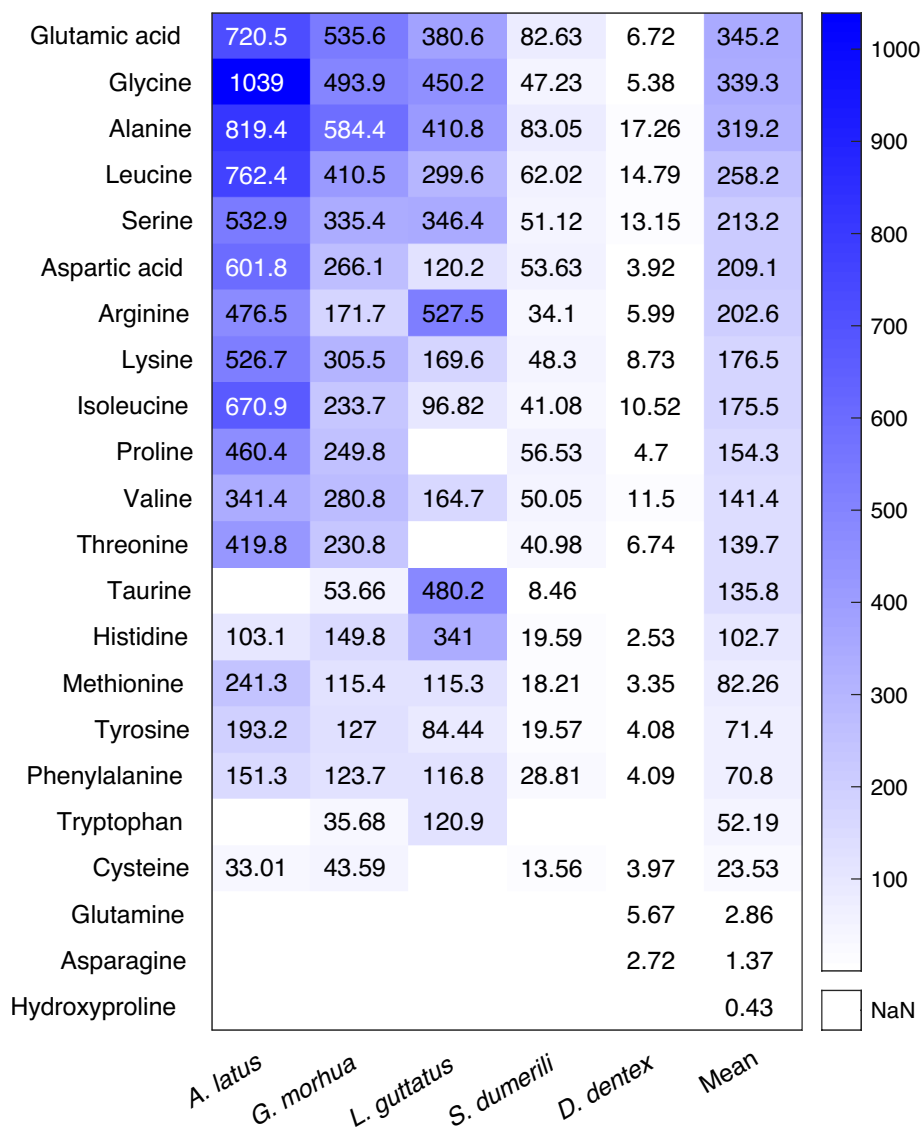


Fig. 8 Heatmap visualization of free amino acid concentrations ($\mu\text{mol g}^{-1}$ wet weight) in oocytes from five marine teleost species. Color gradient represents relative abundance across species, with hierarchical clustering of amino acids by concentration patterns. Data derived from published studies (Samaee et al. 2010; Lanes et al. 2012; Zakeri et al. 2014; Abdo-de la Parra et al. 2017; Sarih 2019)

of these amino acids rank among the most abundant in other species (Fig. 8), enabling improved egg quality reflected in higher viability, increased hatching percentages, and enhanced larval survival. Effects on egg viability parameters correlate with total amino acid content in the yolk, as observed in *Dentex dentex* (Samaee et al. 2010).

The influence of histidine on specific amino acid abundance may stem from its catabolic pathway, where glutamic acid is the main end product (Holeček 2020). Glutamic acid

serves as a central amino donor in transamination reactions, providing substrate for synthesizing non-essential amino acids like alanine through alanine aminotransferase (Holeček 2020). Furthermore, in species capable of endogenous arginine synthesis, glutamate acts as a precursor via the ornithine–citrulline–arginine pathway; citrulline synthesis relies on glutamine, glutamate, and proline (Stryer et al. 2002). Dietary histidine supplementation may therefore enhance the availability of these amino acids in the yolk by promoting glutamate-mediated biosynthetic routes, potentially influencing amino acid redistribution or retention mechanisms during vitellogenesis.

Free amino acids (FAAs) serve as the primary endogenous energy source during early development in marine fish, particularly species with pelagic eggs. During embryogenesis, FAAs supply 60–70% of the total energy required, underscoring their critical role in meeting metabolic demands before exogenous feeding begins (Rønnestad and Fyhn 1993; Rønnestad et al. 1992, 1999, 2000; Finn and Fyhn 1986). Highly concentrated in the yolk, these amino acids mobilize progressively and typically deplete before other energy substrates, such as lipids.

This metabolic pattern occurs consistently across diverse species. In *V. moseri*, FAA levels remained stable early but decreased to approximately 13% of initial concentrations by day 13 post-fertilization, indicating sustained metabolic utilization (Ohkubo and Matsubara 2002). Similarly, *Pseudopleuronectes americanus* exhibited sequential substrate mobilization: carbohydrates were consumed first, followed by proteins (maintaining their role as the dominant energy source), with lipids utilized only after hatching (Cetta and Capuzzo 1982). A marked FAA decline just before hatching occurred in *Scophthalmus rhombus* (Cruzado et al. 2013), a pattern documented in other teleosts. This depletion phase coincides with increasing somatic protein content, suggesting a metabolic shift from energy production to structural protein synthesis during late morphogenesis (Finn and Fyhn 2010).

Although FAA depletion during embryonic development is a general marine fish pattern, some studies indicate histidine may be reduced remarkably in specific taxa. For instance, Naz (2009) reported that among essential amino acids, histidine and lysine showed the most significant decreases ($P < 0.05$) by 96 h post-fertilization, suggesting preferential metabolic use. Similarly, in *Lutjanus guttatus*, Abdo-de la Parra et al. (2017) observed that histidine, arginine, methionine, and taurine were consumed rapidly from fertilization through the first day after hatching, underscoring their importance during this critical period. Additionally, in Japanese eel (*A. japonica*), glutamine—the primary product of histidine catabolism—appeared in unusually high concentrations (32% of total FAAs) in ovulated eggs but dropped sharply to 5% of its initial value within two days post-fertilization, suggesting intense metabolic turnover (Ohkubo et al. 2008). These findings collectively point to a potentially prominent role of histidine, not only as an energy substrate but also as a precursor for key metabolic intermediates like glutamine during early development.

In parallel, high concentrations of cortisol accumulate in teleost oocytes, but levels decline rapidly after fertilization and reach minimal values at hatching. A significant proportion of the cortisol content may be lost during water hardening (Brooks et al. 1997), suggesting FAA utilization.

While histidine influences the abundance of other amino acids in fish eggs and is presumed to function either as an antioxidant or energy substrate during early development, these roles remain speculative. Examining the distribution and temporal fluctuations of histidine in key tissues—muscle, gonads, gametes, and eggs—during the reproductive period in various fish species provides descriptive patterns. However, understanding its functional

importance requires moving beyond description: it is essential to determine if manipulating broodstock histidine intake alters the amino acid profile of gametes and eggs, affects embryonic development, or improves larval performance to evaluate histidine's precise roles better.

Histidine supplementation in marine fish diets: effects on broodstock

To date, only two studies have specifically investigated histidine as a functional dietary additive for enhancing reproductive performance in marine fish: Sarih (2019) and Djellata (2021). Both experiments used *Seriola dumerili*, evaluating a 0.8% histidine-supplemented diet against two controls—one supplemented with 0.93% taurine and another with elevated protein (56%).

Histidine supplementation significantly increased spawning volume and fertilization rates (77.02%), surpassing rates reported for hormonal induction (22–50%; Mylonas et al. 2004) and natural spawning (61.75–76.0%; Kawabe et al. 1996, 1998; Jerez et al. 2006), highlighting its potential as a reproductive enhancer.

Given the limited studies on histidine's influence on reproductive hormones in fish, research on the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) offers relevant insights. Females fed 10.57 g/kg histidine exhibited improved gonadosomatic index, elevated ecdysteroid levels, and increased intracellular cyclic adenosine monophosphate—all indicators of ovarian maturation (Yao et al. 2024). Histidine supplementation also regulated gene expression of key molecules (*mih*, *ecr*, *rxr*, *foxl2*, *vg*, *cdc2*, *cyclin B*, *chitinase*, *pka*), suggesting activation of genetic pathways essential for vitellogenesis and ovarian cell proliferation. These effects, combined with histidine's chelation capacity, may stem from its role as a copper-binding ligand in gonadotropins (Kochman et al. 1992), supporting key hormonal mechanisms.

The imidazole group of histidine serves as a primary nitrogen donor for Cu^{2+} coordination (Sealfon et al. 1997; Da Silva and Williams 2001; Uchida 2003; Sóvágó et al. 2016), with microscale thermophoresis assays confirming Cu^{2+} 's preferential binding (Reznik et al. 2022). Copper induces ovulation by promoting the release of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, gonadotropin-releasing hormone I, and neurokinin B, acting as a critical cofactor in reproductive neuropeptides within the hypothalamic-pituitary-gonadal axis (Fevold et al. 1936; Topaloglu et al. 2009; Inesi 2016; Peacey et al. 2019). Dietary histidine thus likely enhances reproductive performance by improving hypothalamic-pituitary-gonadal axis function.

In *S. dumerili*, histidine supplementation improved egg viability (Sarih 2019), correlating strongly with buoyancy, primarily determined (~90%) by aqueous content (Craik et al. 1987). Proper osmoregulation and oxygen exchange depend on the vitelline membrane's low permeability (Rønnestad et al. 1999), with developmental abnormalities often altering density and increasing mortality. Histidine may mitigate such risks through antioxidant activity and pH buffering, countering stressors like oxygen deficits or salinity changes (Izquierdo et al. 2001).

Egg buoyancy in pelagic species arises from water influx during oocyte maturation, driven predominantly by free amino acid (FAA) generation from vitellogenin hydrolysis—surpassing inorganic ion contributions (Craik et al. 1987). FAAs serve as primary osmotic effectors for buoyancy and hydration, as documented extensively in marine species (Cerdà et al. 2007). Proline depletion at hatching in *Scophthalmus maximus* eggs (Finn and Evjen

1996) underscores its role in chorionic proteins, corroborated by proline/glutamine enrichment in teleost egg proteins (Lubzens et al. 2010). Aquaporins in the chorion membrane further facilitate osmotic water transport via asparagine-proline-alanine motifs (King et al. 2004).

Histidine supplementation enhances the availability of arginine, tyrosine, proline, and alanine—amino acids linked to egg viability (Samaee et al. 2010). Conditional amino acids (proline, arginine, cysteine, glutamine, tyrosine, glycine, ornithine, and serine) become critical under stress when endogenous synthesis is insufficient (Asencio-Alcudia 2021). Histidine thus indirectly improves egg quality by modulating amino acid profiles involved in chorion structure and osmotic regulation.

Eggs from histidine and protein treatments were larger than those from taurine-fed broodstock, though histidine-group eggs had smaller yolk sacs and lipid droplets (Fig. 9b, c). Crude protein content differed significantly, with the high-protein diet yielding the highest yolk protein (12.30%), followed by histidine (10.98%) and taurine (5.5%) (Sarih 2019). Egg size and protein content were positively influenced by dietary protein and histidine, suggesting that larger eggs provide greater structural reserves. Despite unchanged yolk sac size, histidine elevated arginine, tyrosine, proline, and alanine concentrations—with glutamic acid, leucine, lysine, alanine, and proline being most abundant and functionally critical (Samaee et al. 2010; Lanes et al. 2012; Zakeri et al. 2014; Abdo-de la Parra et al. 2017; Sarih 2019; Kwasek et al. 2014).

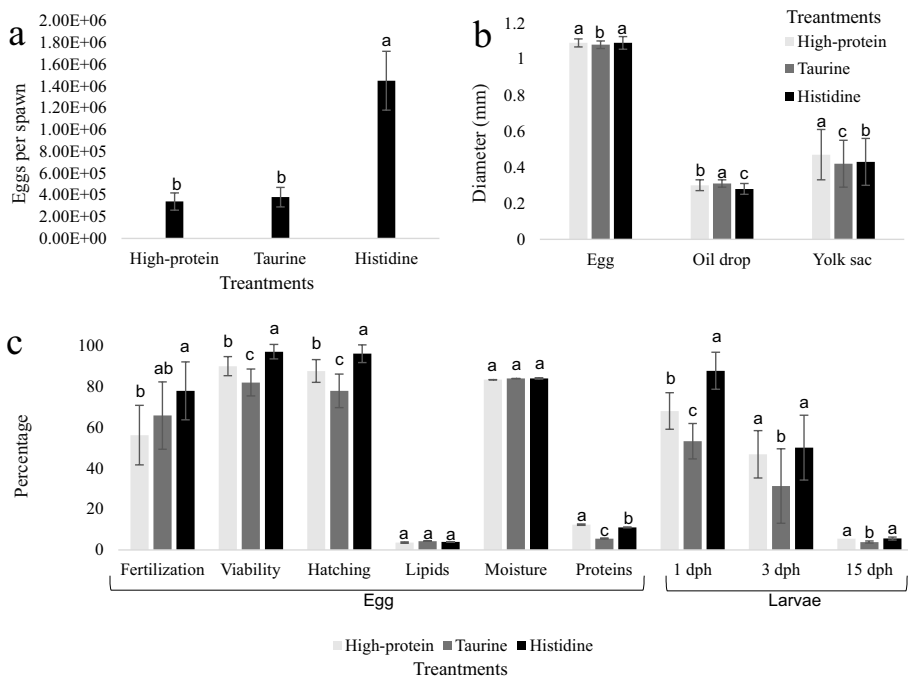


Fig. 9 Effect of the addition of histidine in the diet of *Seriola dumerili* broodstock on **a** total eggs per spawn, **b** egg diameters, lipid drop, and yolk sac, and **c** % of fertilization, viability, hatching, lipid, moisture, and protein in eggs and larval survival at 1, 3, and 15 days post-hatching. Different letters indicate significant differences between treatments documented by the author in each analysis (Sarih 2019; Sarih et al. 2019; Djellata 2021). Standard deviations and significant differences at $P=0.05$ (letters) are as reported in the original sources

Higher hatching percentages in *S. dumerili* (Sarih et al. 2019) may relate to choriolysin synthesis—a zinc-dependent astacin metallo-endopeptidase whose active site requires three histidine residues (His92, His96, and His102) for zinc coordination (Orsetti 2007). This aligns with histidine utilization peaks preceding hatching (Rønnestad et al. 1992; Ohkubo et al. 2008; Abdo-de la Parra et al. 2017). Larvae from histidine-supplemented broodstock showed significantly higher survival at 3 and 15 days post-hatching (dph) (Fig. 9c; Sarih et al. 2019; Djellata 2021). Egg composition directly influences yolk reserves, which fuel energy metabolism, protein synthesis, and development of feeding structures (Samaee et al. 2009; Finn et al. 1996; Rønnestad et al. 1999; Teles 2019). Survival advantages beyond yolk absorption (Djellata 2021) indicate that histidine optimizes embryonic development, yielding robust larvae with enhanced starvation resistance and feeding competence (Blaxter and Hempel 1963).

While juvenile fish studies offer insights into histidine metabolism, invasive gonadal analyses remain unfeasible in valuable broodstock. This limitation necessitates cautious extrapolation across life stages, as juvenile endpoints do not directly reflect reproductive function. Nevertheless, histidine supplementation demonstrably enhances broodstock reproductive performance, egg quality, and larval viability through multifaceted mechanisms—from hormonal regulation and osmotic balance to enzymatic activation—though its direct roles as an antioxidant or energy substrate require further validation. Future research should prioritize non-invasive methods to elucidate histidine's precise actions in reproductive tissues and assess its translational potential across commercially important marine species.

Histidine supplementation in marine fish diets: effects on juvenile stages

Approximately ten studies since 1970 have evaluated dietary histidine supplementation (0.25–6.74%) in juvenile fish weighing 0.65–80 g (Table 2). Histidine supplementation did not significantly affect survival in *Sciaenops ocellatus*, *Protonibea crocea*, or *Argyrosomus regius* (Fig. 10a; Li et al. 2014; Peachey et al. 2018; Saavedra et al. 2020), but improved final weight in *S. ocellatus*, *Catla catla*, and *P. crocea* at optimal levels of 0.48%, 0.67%, and 0.66%, respectively. Supplementation also reduced feed conversion ratios at 0.39% (*C. catla*), 0.48% (*S. ocellatus*), 0.7% (*Oncorhynchus tshawytscha*), and 0.9% (*Oncorhynchus kisutch*) (Fig. 10c; Klein and Halver 1970; Li et al. 2014; Zehra and Khan 2015; Peachey et al. 2018).

In contrast, *Seriola quinqueradiata* and *A. regius* showed no significant changes in growth metrics across 0–6.74% histidine (Fig. 10b; Ogata 2002; Yamamoto et al. 2019; Saavedra et al. 2020). These high-performance swimmers exhibit sustained, rapid locomotion supported by streamlined morphology and developed axial musculature (Clark and Seymour 2006). Their ecological divergence from less active species (*S. ocellatus*, *C. catla*) suggests histidine may be preferentially allocated to muscle buffering or carnosine synthesis rather than growth. Supporting this, Ogata (2002) documented increased free histidine in *S. quinqueradiata* white muscle and enhanced buffering capacity (pH 6.0–7.5), indicating efficient histidine deposition for pH regulation during physiological stress.

In less active species, histidine inclusion (0.39% in *C. catla*; 0.48% in *S. ocellatus*) improved condition factor (Fig. 10d; Zehra and Khan 2015; Peachey et al. 2018), reflecting enhanced nutritional status. Notably, *C. catla*—exhibiting the lowest energy

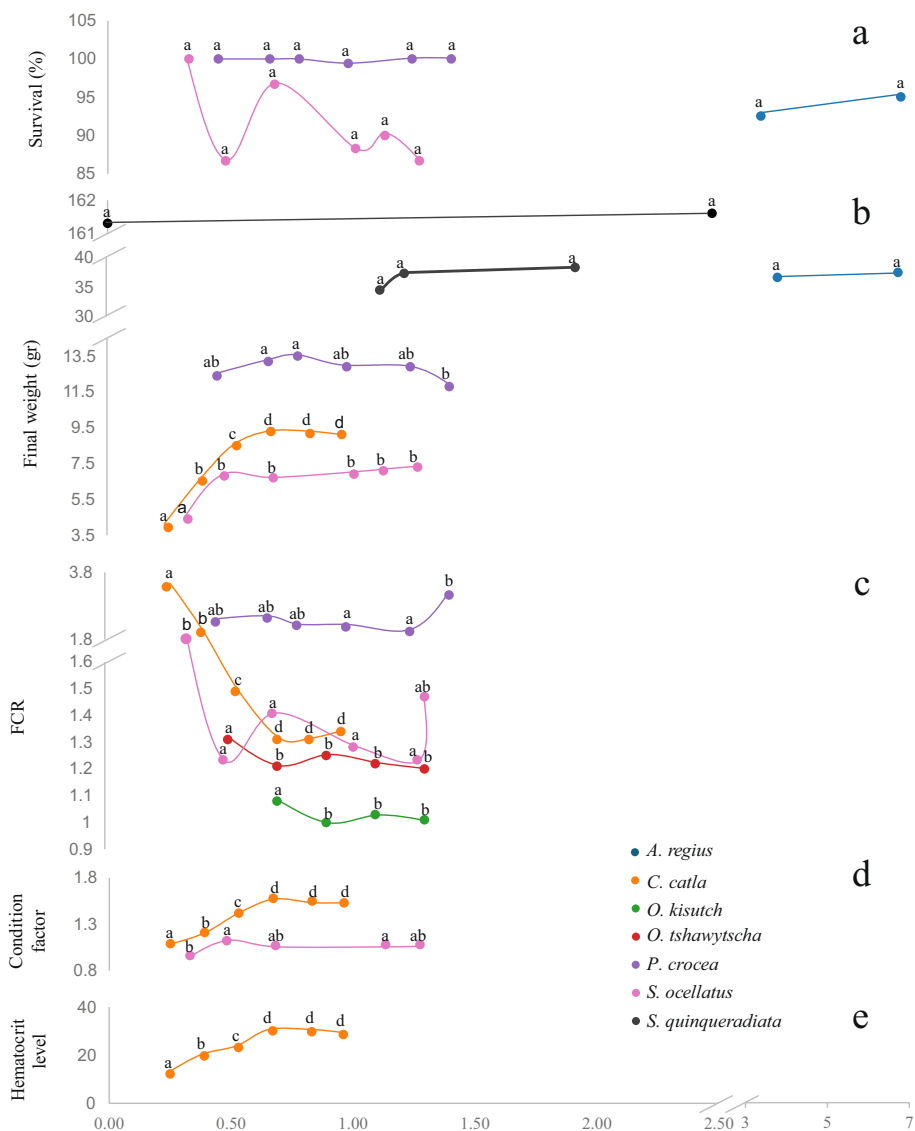


Fig. 10 Effects of histidine-enriched diets on juvenile fish performance metrics: **a** survival, **b** final weight, **c** feed conversion ratio (FCR), **d** condition factor, and **e** hematocrit levels across multiple species. Different lowercase letters indicate statistically significant differences between treatments ($p < 0.05$) as reported in the original studies (Klein and Halver 1970; Ogata 2002; Li et al. 2014; Zehra and Khan 2015; Peachey et al. 2018; Yamamoto et al. 2019; Saavedra et al. 2020)

expenditure—showed increased hematocrit at 0.7% histidine, underscoring histidine’s role in hemoglobin function for iron/oxygen binding and erythropoiesis (Kopple and Swend-seid 1975). Histidine’s effects on hematopoiesis amplify when co-supplemented with iron

(Jontofsohn et al. 1975; Giordano et al. 1997). In *S. quinquerradiata*, histidine dose-dependently reduced glucose levels (Yamamoto et al. 2019), suggesting mitigation of cortisol-mediated stress responses and improved homeostasis (Saavedra et al. 2020). This stabilization likely enhances energy allocation for growth in less active species (*S. ocellatus*, *C. catla*, *P. crocea*), where 0.48–0.66% histidine improved final weight (Li et al. 2014; Zehra and Khan 2015; Peachey et al. 2018).

Supraoptimal histidine reduced growth performance (e.g., 1.4% in *P. crocea*), aligning with findings that amino acid imbalances increase feed conversion ratios (Lewis and Kohler 2008). Excess histidine may alter T cell polarization, phagocytic activity, and inflammatory responses, causing tissue damage. Histidine-induced mucin hypersecretion (e.g., MUC2) can disrupt gut microbiota and nutrient absorption despite conferring parasite resistance (Vallejo and Ellis 1989; Morel et al. 1991; Galindo-Villegas et al. 2016).

Collectively, histidine exerts pleiotropic physiological effects: it optimizes growth and feed efficiency at species-specific concentrations in less active teleosts but supports muscle buffering and stress responses in high-performance swimmers (*S. quinquerradiata*, *A. regius*). It further enhances hematopoiesis and glucose homeostasis, yet supraoptimal supplementation risks immune dysregulation and malabsorption. Current literature remains limited to ten species over five decades, highlighting the need for expanded research on dose–response dynamics, interactions with micronutrients (e.g., iron), and mechanistic studies linking histidine metabolism to species-specific life history strategies.

Conclusions

Histidine plays a dynamic and multifunctional role throughout the reproductive cycle of marine fish. During early reproductive stages, histidine is mobilized from muscle reserves to meet increased metabolic demands, supporting energy production, pH regulation, and antioxidant protection required for gonadal development. As maturation progresses, histidine becomes actively involved in ovarian development through vitellogenin synthesis and osmolyte generation, which are essential for oocyte hydration, while simultaneously protecting against oxidative stress during gametogenesis.

In male reproduction, histidine maintains sperm function by serving as both an energy substrate and an antioxidant. Although evidence indicates that histidine content in eggs influences embryonic viability, the specific mechanisms require further investigation.

Dietary histidine supplementation in broodstock has been demonstrated to significantly improve three key reproductive parameters: fertility, gamete quality, and larval survival. Parallel studies in juveniles confirm its beneficial effects on health and stress resilience when included at optimal levels. These findings collectively establish histidine as a crucial nutritional component that supports the complete reproductive process from initial reserve mobilization through embryonic development, making it an essential dietary factor for sustainable marine aquaculture production.

Acknowledgements The authors also thank the following technicians and colleagues for sharing their valuable knowledge in marine fish aquaculture: Francisco Encarnación Ramírez, Roxana Bertha Inohuye Rivera, Juan Carlos Pérez Urbiola, Pablo Monsalvo Spencer, Marco Antonio Hernández de Dios, Gabriela Mendoza Carrion, and Carlos Ernesto Ceseña.

Author contribution The study was conceptualized by Deneb Maldonado-García, Lizbeth Y. Macías-Reyes, Minerva C. Maldonado-García, and Dariel Tovar-Ramírez. Methodology was developed by Deneb Maldonado-García, Lizbeth Y. Macías-Reyes, and Minerva C. Maldonado-García. The original draft was written by Deneb Maldonado-García and Lizbeth Y. Macías-Reyes, with subsequent drafting, revising and editing performed by Deneb Maldonado-García and Dariel Tovar-Ramírez. Supervision was provided by Deneb Maldonado-García, Milton Spanopoulos-Zarco, and Alexia Omont. Project administration and funding acquisition were handled by Minerva C. Maldonado-García. All authors have read and approved the final version of the manuscript.

Funding This work was supported by the Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT, México), with the grant number (CONAHCYT-PRONACE no. 321279) and with the doctoral fellowship (CVU 503223). Note: CONAHCYT is now designated as Secihti. Author Minerva Maldonado-García has received research support from Kampachi Farms México (project no. 20464).

Data availability No datasets were generated or analysed during the current study.

Declarations

Competing interests The authors declare no competing interests.

References

- Abdo-de la Parra MI, Rodríguez-Montes de Oca GA, Rodríguez-Ibarra LE, Domínguez-Jiménez P, Román-Reyes JC, Velasco-Blanco G, Ibarra-Castro L (2017) Composición proximal y perfil de aminoácidos de estadios tempranos del pargo flamenco *Lutjanus guttatus*. *Rev Biol Mar Oceanogr* 52:325–332. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572017000200011>
- Abe H (2000) Role of histidine-related compounds as intracellular proton buffering constituents in vertebrate muscle. *Biochemistry* 65:757–765
- Agnieszka M, Janina KW, Katarzyna KK (2003) Five-membered heterocycles. Part III. Aromaticity of 1,3-imidazole in 5+n hetero-bicyclic molecules. *J Mol Struct* 655:397–403. [https://doi.org/10.1016/S0022-2860\(03\)00282-5](https://doi.org/10.1016/S0022-2860(03)00282-5)
- Alcañiz L, Vega A, Chacón P, El Bekay R, Ventura I, Aroca R, Blanca M, Bergstrahl DT, Monteseirín J (2013) Histamine production by human neutrophils. *FASEB J* 27:2902–2910. <https://doi.org/10.1096/fj.12-223867>
- Alvarez JG, Storey BT (1995) Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. *Mol Reprod Dev* 42:334–346. <https://doi.org/10.1002/mrd.1080420311>
- Andersen SM, Waagbø R, Espe M (2016) Functional amino acids in fish health and welfare. *Front Biosci* 8:143–169. <https://doi.org/10.2741/757>
- Andersson K, Chen D, Mattsson H, Sundler F, Håkanson R (1998) Physiological significance of ECL-cell histamine. *Yale J Biol Med* 71:183–193
- Asencio-Alcudia G (2021) Efecto del uso de aditivos alimentarios funcionales en peces de importancia comercial (*Seriola rivoliana*, *Argyrosomus regius*, *Atractosteus tropicus*). PhD Thesis, CIBNOR, La Paz
- Aydın AF, Kalaz EB, Kucukgergin C, Çoban J, Doğru-Abbasoğlu S, Uysal M, Koçak-Toker N (2017) Carnosine prevents testicular oxidative stress and advanced glycation end product formation in D-galactose-induced aged rats. *Curr Aging Sci* 11:10–15. <https://doi.org/10.1111/and.12939>
- Baccari GC, Pinelli C, Santillo A, Minucci S, Rastogi RK (2011) Mast cells in nonmammalian vertebrates: an overview. *Int Rev Cell* 290:1–53. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386037-8.00006-5>
- Billard R, Menezo Y (1984) The amino acid composition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) seminal fluid and blood plasma: a comparison with carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 41:255–258. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90288-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90288-6)
- Blaxter JHS, Hempel G (1963) The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus* L.). *ICES J Mar Sci* 28:211–240. <https://doi.org/10.12691/jas-1-1-1>

- Boldyrev A, Bulygina E, Leinsoo T, Petrushanko I, Tsubone S, Abe H (2004) Protection of neuronal cells against reactive oxygen species by carnosine and related compounds. *Comp Biochem Physiol B* 137:81–88. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2003.10.008>
- Booth MA, Pirozzi I (2022) The digestible histidine requirement of juvenile yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. *Aquaculture* 548:737543. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737543>
- Branco ACCC, Yoshikawa FSY, Pietrobón AJ, Sato MN (2018) Role of histamine in modulating the immune response and inflammation. *Mediators Inflamm* 2018:9524075. <https://doi.org/10.1155/2018/9524075>
- Brooks S, Tyler C, Sumpter J (1997) Egg quality in fish: what makes a good egg? *Rev Fish Biol Fish* 7:387–416. <https://doi.org/10.1023/A:1018400130692>
- Brosnan ME, Brosnan JT (2020) Histidine metabolism and function. *J Nutr* 150:2570–2575. <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa079>
- Buhner S, Schemann M (2012) Mast cell–nerve axis with a focus on the human gut. *Biochim Biophys* 1822:85–92. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.06.004>
- Butts IAE, Hilmarisdóttir GS, Zadmajid V, Gallego V, Støttrup JG, Jacobsen C, Krüger-Johnsen M, Politis SN, Asturiano JF, Tomkiewicz J (2020) Dietary amino acids impact sperm performance traits for a catadromous fish, *Anguilla anguilla* reared in captivity. *Aquac* 518:734602. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734602>
- Cabrita E, Ma S, Diogo P, Martínez-Páramo S, Sarasquete C, Dinis MT (2011) The influence of certain amino acids and vitamins on post-thaw fish sperm motility, viability and DNA fragmentation. *Anim Reprod Sci* 125:189–195. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.03.003>
- Campbell PM (1992) Stress reduces the quality of gametes by rainbow trout. *Biol Reprod* 47:1140–1150. <https://doi.org/10.1095/biolreprod47.6.1140>
- Carnevali O, Carletta R, Cambi A, Vita A, Bromage N (1999) Yolk formation and degradation during oocyte maturation in seabream *Sparus aurata*: involvement of two lysosomal proteinases. *Biol Reprod* 60:140–146. <https://doi.org/10.1095/biolreprod60.1.140>
- Cerdà J, Fabra M, Raldúa D (2007) Physiological and molecular basis of fish oocyte hydration. In: Babin PJ, Cerdà J, Lubzens E (eds) *The Fish Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications*, 1st edn. Springer, Dordrecht, pp 349–396.
- Cetta CM, Capuzzo JM (1982) Physiological and biochemical aspects of embryonic and larval development of the winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*. *Mar Biol* 71:327–337. <https://doi.org/10.1007/BF00397049>
- Chew SF, Wong MY, Tam WL, Ip YK (2003) The snakehead *Channa asiatica* accumulates alanine during aerial exposure, but is incapable of sustaining locomotory activities on land through partial amino acid catabolism. *J Exp Biol* 206:693–704. <https://doi.org/10.1242/jeb.00140>
- Clark TD, Seymour RS (2006) Cardiorespiratory physiology and swimming energetics of a high-energy-demand teleost, the yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). *J Exp Biol* 209:3940–3951
- Coltorti M, Di Simone A, Budillon G (1966) Histidase and urocanase activities of liver and plasma. Correlations between tissue enzyme levels and plasmatic increases during human and mouse viral hepatitis. *Clin Chim Acta* 13:568–573. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(66\)90160-4](https://doi.org/10.1016/0009-8981(66)90160-4)
- Craik JCA, Harvey SM (1987) The causes of buoyancy in eggs of marine teleosts. *J Mar Biol Assoc UK* 67:169–182. <https://doi.org/10.1017/S0025315400026436>
- Cruzado IH, Rodríguez E, Herrera M, Lorenzo A, Almansa E (2013) Changes in lipid classes, fatty acids, protein and amino acids during egg development and yolk-sac larvae stage in brill *Scophthalmus rhombus*. *Aquac Res* 44:1568–1577. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03164.x>
- Csaba G (2015) Mast cell, the peculiar member of the immune system: a homeostatic aspect. *Acta Microbiol Immunol Hung* 62:207–231. <https://doi.org/10.1556/030.62.2015.3.1>
- Da Silva JF, Williams RJP (2001) *The biological chemistry of the elements: the inorganic chemistry of life*. Oxford University Press, Oxford
- Dahl TA, Midden WR, Hartman PE (1988) Some prevalent biomolecules as defences against singlet oxygen damage. *Photochem Photobiol* 47:357–362. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1988.tb02737.x>
- Davey CL (1960) The significance of carnosine and anserine in striated skeletal muscle. *Arch Biochem Biophys* 89:303–308. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(60\)90059-X](https://doi.org/10.1016/0003-9861(60)90059-X)
- De Lamirande E, Gagnon C (1992) Reactive oxygen species and human spermatozoa. *Ann N Y Acad Sci* 13:368–378. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.1992.tb03328.x>
- Derave W, Everaert I, Beeckman S, Baguet A (2010) Muscle carnosine metabolism and β -alanine supplementation in relation to exercise and training. *Sports Med* 40:247–263. <https://doi.org/10.2165/11319430-000000000-00000>

- Dezfuli BS, Giari L (2008) Mast cells in the gills and intestines of naturally infected fish: evidence of migration and degranulation. *J Fish Dis* 31:845–852. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2008.00961.x>
- Djellarta A (2021) Advances in greater amberjack (*Seriola dumerili*, Risso, 1810) larval husbandry: nutrition, rearing systems and weaning protocol. PhD Thesis, Univ. Las Palmas Gran Canaria, Las Palmas
- Dolan E, Saunders B, Harris RC, Bicuado JEPW, Bishop DJ, Sale C, Gualano B (2019) Comparative physiology investigations support a role for histidine-containing dipeptides in intracellular acid–base regulation of skeletal muscle. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 234:77–86. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.04.017>
- Erickson MC, Hultin HO (1988) A unique role of histidine in Fe-catalyzed lipid oxidation by fish sarcoplasmic reticulum. In: Oxygen radicals in biology and medicine. Springer US, Boston, pp 307–312. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5568-7_46
- Erickson MC, Hultin HO (1992) Influence of histidine on lipid peroxidation in sarcoplasmic reticulum. *Arch Biochem Biophys* 292:427–432. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(92\)90012-L](https://doi.org/10.1016/0003-9861(92)90012-L)
- Felig P (1973) The glucose-alanine cycle. *Metabolism* 22:179–207. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(73\)90269-2](https://doi.org/10.1016/0026-0495(73)90269-2)
- Feng L, Zhao B, Chen G, Jiang W, Liu Y, Jiang J, Hu K, Li S, Zhou X (2013) Effects of dietary histidine on antioxidant capacity in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Fish Physiol Biochem* 39:559–571. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9719-9>
- Fernández-Palacios H, Schuchardt D, Roo J, Hernández-Cruz CM, Izquierdo M (2015) Multiple GnRHa injections to induce successful spawning of wild caught greater amberjack (*Seriola dumerili*) matured in captivity. *Aquac Res* 46:1748–1759. <https://doi.org/10.1111/are.12330>
- Fevold HL, Hisaw FL, Greep R (1936) Augmentation of the gonad stimulating action of pituitary extracts by inorganic substances, particularly copper salts. *Am J Physiol* 117:68–74. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1936.117.1.68>
- Finn RN, Fyhn HJ, Henderson RJ, Evjen MS (1996) The sequence of catabolic substrate oxidation and enthalpy balance of developing embryos and yolk sac larvae of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Comp Biochem Physiol A Physiol* 115:133–151. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(96\)00004-2](https://doi.org/10.1016/0300-9629(96)00004-2)
- Finn RN, Fyhn HJ (1986) Compartmental distribution of free amino acids and protein in developing yolk sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Proc. 8th Eur. Soc Comp Physiol Biochem* p 68
- Finn RN, Fyhn HJ (2010) Requirement for amino acids in ontogeny of fish. *Aquac Res* 41:684–716. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02220.x>
- Fontana R, Torre S (2016) The deep correlation between energy metabolism and reproduction: a view on the effects of nutrition for women fertility. *Nutrients* 8:87. <https://doi.org/10.3390/nu8020087>
- Fry FEJ (1971) The effect of environmental factors on the physiology of fish. In: Hoar WS, Randall DJ (eds) *Fish physiology*, vol VII. Environmental relations and behavior. Academic Press, New York, pp 1–98
- Fujiyoshi Y, Mitsuoka K, de Groot BL, Philippson A, Grubmüller H, Agre P, Engel A (2002) Structure and function of water channels. *Curr Opin Struct Biol* 12:509–515. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(02\)00355-X](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(02)00355-X)
- Galindo-Villegas J, García-García E, Mulero V (2016) Role of histamine in the regulation of intestinal immunity in fish. *Dev Comp Immunol* 64:178–186. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2016.02.013>
- Gao X, Hong L, Liu Z, Guan C, Meng L, Li Y, Huang B (2019) Amino acid content and composition in female American shad, *Alosa sapidissima*, at different stages of ovarian development. *Open J. Fish Res.* 6:163–171. <https://doi.org/10.12677/ojfr.2019.64022>
- Giordano C, De Santo NG, Rinaldi S, Acone D, Esposito R, Gallo B (1997) Histidine for treatment of uremic anemia. *Br Med J* 4:714–716. <https://doi.org/10.1136/bmj.4.5894.714>
- Gómez-Requeni P, Mingarro M, Caldich-Giner JA, Médale F, Martin SAM, Houlihan DF, Kaushik SJ (2004) Protein growth performance, amino acid utilization and somatotrophic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Perca fluviatilis*). *Aquaculture* 232:493–510. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00532-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00532-5)
- Guthrie HD, Welch GR (2012) Effects of reactive oxygen species on sperm function. *Theriogenology* 78:1700–1708. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.05.002>
- Haas HL, Sergeeva OA, Selbach O (2008) Histamine in the central nervous system. *Physiol Rev* 88:1183–1241. <https://doi.org/10.1152/physrev.00043.2007>
- Halliwell B (1999) Free radicals, other reactive species and disease. *Free Radic. Biol. Med.*
- Harries WEC, Akhavan D, Miercke LJW, Khademi S, Stroud RM (2004) The channel architecture of aquaporin 0 at a 2.2-Å resolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:14045–14050

- Henrotte E, Mandiki RSNM, Prudencio AT, Vandecan M, M  lard C, Kestemont P (2010) Egg and larval quality, and egg fatty acid composition of Eurasian perch breeders (*Perca fluviatilis*) fed different dietary DHA/EPA/AA ratios. *Aquac Res* 41:53–61. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02455.x>
- Hernández de Dios MA, Tovar-Ramírez D, Maldonado-García D, Galaviz-Espinoza MA, Barreto-Curiel F, Spanopoulos-Zarco M et al (2024) Taurine improves juvenile *Seriola rivoliana* growth performance and biochemical profiles in blood serum and skeletal muscle. *Lat Am J Aquat Res* 52:443–458. <https://doi.org/10.3856/vol52-issue3-fulltext-3204>
- Hernández de-Dios MA, Tovar-Ramírez D, Maldonado-García D, Galaviz-Espinoza MA, Spanopoulos-Zarco M, Maldonado-García MC (2022) Functional additives as a boost to reproductive performance in marine fish: a review. *Fishes* 7:262. <https://doi.org/10.3390/fishes7050262>
- Higuchi M, Celino FT, Tamai A, Miura C, Miura T (2012) The synthesis and role of taurine in the Japanese eel testis. *Amino Acids* 43:773–781. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-1128-3>
- Hipkiss AR (2009) On the enigma of carnosine’s anti-ageing actions. *Exp Gerontol* 44:237–242. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2008.11.001>
- Hipkiss AR, Preston JE, Himsworth DT, Worthington VC (2010) Pluripotent protective effects of carnosine, a naturally occurring dipeptide. *Ann N Y Acad Sci* 854:37–53. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09890.x>
- Hochachka PW, Mommsen TP (1983) Protons and anaerobiosis. *Science* 219:1391–1397. <https://doi.org/10.1126/science.6298937>
- Hochachka PW, Somero GN (1984) Biochemical adaptation. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ, pp 337–348
- Hole   ek M (2020) Histidine in health and disease: metabolism, physiological importance, and use as a supplement. *Nutrients* 12:848. <https://doi.org/10.3390/nu12030848>
- Inesi G (2016) Critical review molecular features of copper binding proteins involved in copper homeostasis. *IUBMB Life* 69:211–217. <https://doi.org/10.1002/iub.1590>
- Izquierdo MS, Fernandez-Palacios H, Tacon AGJ (2001) Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197:25–42. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00581-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00581-6)
- Jerez S, Samper M, Santamaría FJ, Villamandos JE, Cejas JR, Felipe BC (2006) Natural spawning of greater amberjack (*Seriola dumerili*) kept in captivity in the Canary Islands. *Aquaculture* 252:199. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.06.031>
- Jiang S, Xiong Y, Zhang W, Zhu J, Cheng D, Gong Y, Fu H (2022) Molecular characterization of a novel cathepsin L in *Macrobrachium nipponense* and its function in ovary maturation. *Front Endocrinol* 12:816813. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.816813>
- Jirapongpairoj W, Kobayashi K, Fukuda Y, Takano T, Sakai T, Matsuyama T, Nakayasu C, Nozaki R, Hirono I, Kondo H (2015) Development of consensus qPCR primers to detect cytokine genes in three amberjack species: *Seriola quinqueradiata*, *S. lalandi* and *S. dumerili*. *Fish Sci* 81:907–914. <https://doi.org/10.1007/s12562-015-0913-4>
- Jontofsohn R, Heinze V, Katz N, Stuber U, Wilke H, Kluthe R (1975) Histidine and iron supplementation in dialysis and pre-dialysis patients. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 11:391–397. <https://doi.org/10.3390/ph11040111>
- Kapinos L, Song B, Sigel H (1998) Metal ion-coordinating properties of imidazole and derivatives in aqueous solution: interrelation between complex stability and ligand basicity. *Eur J Appl Physiol* 280:50–56. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(98\)00052-8](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(98)00052-8)
- Kawabe K, Kimura J, Ando K, Kakiuchi K (1998) Natural spawning from 2-year-old reared amberjack, *Seriola dumerili* in Chichijima Ogasawara Islands, Southern Japan. *Suisan-Zoshoku* 46:31–36. <https://doi.org/10.1111/raq.12544>
- Kawabe K, Kato K, Kimura J, Okamura Y, Ando K, Saito M (1996) Rearing of broodstock fish and egg-taking from amberjack *Seriola dumerili* in Chichi-jima, Ogasawara Islands, southern Japan. *Aquaculture Science* 44:151–157. <https://doi.org/10.11233/aquaculturesci1953.44.151>
- King LS, Kozono D, Agre P (2004) From structure to disease: the evolving tale of aquaporin biology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5:687–698. <https://doi.org/10.1038/nrm1469>
- Klein RG, Halver JE (1970) Nutrition of salmonoid fishes: arginine and histidine requirements of Chinook and coho salmon. *J Nutr* 100:1105–1109. <https://doi.org/10.1093/jn/100.9.1105>
- Kochman K, Gajewska A, Kozłowski H, Masiukiewicz E, Rzeszutarska B (1992) Increased LH and FSH release from the anterior pituitary of ovariectomized rat, in vivo, by copper-, nickel-, and zinc-LHRH complexes. *J Inorg Biochem* 48:41–46. [https://doi.org/10.1016/0162-0134\(92\)80051-v](https://doi.org/10.1016/0162-0134(92)80051-v)
- Kohen R, Yamamoto Y, Cundy KC, Ames BN (1988) Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine, and anserine present in muscle and brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85:3175–3179. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.9.3175>

- Kopple JD, Swendseid ME (1975) Evidence that histidine is an essential amino acid in normal and chronically uremic man. *J Clin Invest* 55:881–891. <https://doi.org/10.1172/JCI108016>
- Krishna Deepak RNV, Sankararamakrishnan R (2016) N-H-N hydrogen bonds involving histidine imidazole nitrogen atoms: a new structural role for histidine residues in proteins. *Biochemistry* 55:3774–3783. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.6b00253>
- Kwasek K, Dabrowski K, Nynca J, Takata R, Wojno M, Wick M (2014) The influence of dietary lysine on yellow perch female reproductive performance and the quality of eggs. *N Am J Aquac* 2014:351–358. <https://doi.org/10.1080/15222055.2014.911223>
- Lahnsteiner F (2009) The role of free amino acids in semen of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and carp *Cyprinus carpio*. *J Fish Biol* 75:816–833. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02317.x>
- Lahnsteiner F (2010) A comparative study on the composition and importance of free amino acids in semen of gilthead sea bream, *Sparus aurata*, and perch, *Perca fluviatilis*. *Fish Physiol Biochem* 36:1297–1305. <https://doi.org/10.1007/s10695-010-9442-3>
- Lanes CFC, Bizuayehu TT, Bolla SL, Martins C, de Oliveira-Fernandes JM, Bianchini A, Kiron V, Babiak I (2012) Biochemical composition and performance of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) eggs and larvae obtained from farmed and wild broodstocks. *Aquaculture* 324:267–275. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.10.036>
- Lewis HA, Kohler CC (2008) Corn gluten meal partially replaces dietary fish meal without compromising growth or fatty acid composition of sunshine bass. *N Am J Aquac* 7:50–60. <https://doi.org/10.1577/A06-091.1>
- Li F, Fitz D, Fraser DG, Rode BM (2010) Catalytic effects of histidine enantiomers and glycine on the formation of dileucine and dimethionine in the salt-induced peptide formation reaction. *Amino Acids* 38:287–294
- Li Z, Bhowmik S, Sagresti L, Brancato G, Smith M, Benson D, Li P, Merz K (2024) Simulating metal-imidazole complexes. *J Chem Theory Comput* 20:6706–6716. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.4c00581>
- Li Y, Cheng Z, Mai K, Ai Q, Shi J (2014) Dietary histidine requirement for juvenile large yellow croaker, *Pseudosciaenops crocea* R. *Isr J Aquac* 66:1–7. <https://doi.org/10.46989/001c.20755>
- Liao SM, Du QS, Meng JZ, Pang ZW, Huang RB (2013) The multiple roles of histidine in protein interactions. *Chem Cent J* 7:44. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-44>
- Licona-Limón P, Kim LK, Palm NW, Flavell RA (2013) TH2, allergy and group 2 innate lymphoid cells. *Nat Immunol* 14:536–542. <https://doi.org/10.1038/ni.2617>
- Lubzens E, Young G, Bobe J, Cerdà J (2010) Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed. *Gen Comp Endocrinol* 165:367–389. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.05.022>
- Marrero N (2017) Bibliography review on reproduction of the most important fish species of the genus *Seriola*. Bachelor's Thesis, Univ. Las Palmas Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria
- Martinel Lamas DJ, Rivera ES, Medina VA (2015) Histamine H4 receptor: insights into a potential therapeutic target in breast cancer. *Front Biosci* 7:1–9
- Martínez A (1995) Evidence for a functionally important histidine residue in human tyrosine hydroxylase. *Amino Acids* 9:285–292
- Martin-Hidalgo D, Bragado MJ, Batista AR, Oliveira PF, Alves MG (2019) Antioxidants and male fertility: from molecular studies to clinical evidence. *Antioxidants* 8(4):89. <https://doi.org/10.3390/antiox804089>
- Matsubara T, Koya Y (1997) Course of proteolytic cleavage in three classes of yolk proteins during oocyte maturation in barfin flounder *Verasper moseri*, a marine teleost spawning pelagic eggs. *J Exp Zool* 278:189–200
- Matsubara T, Nagae M, Ohkubo N, Andoh T, Sawaguchi S, Hiramatsu N, Sullivan CV, Hara A (2003) Multiple vitellogenins and their unique roles in marine teleosts. *Fish Physiol Biochem* 28:295–299. <https://doi.org/10.1023/B:FISH.0000030559.71954.37>
- Matsunari H, Hamada K, Mushiaki K, Takeuchi T (2006) Effects of taurine levels in broodstock diet on reproductive performance of yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Fish Sci* 72:955–960. <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2006.01243.x>
- Mehler AH, Tabor H (1953) Deamination of histidine to form urocanic acid in liver. *J Biol Chem* 201:775
- Miura C, Yoshihara Y, Shimizu-Yamaguchi S, Hayashi D, Hamada K, Takeda Y, Miura M, Miura T (2014) Controlled feeding alleviates the reduced growth associated with spawning in farmed yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture* 424:10–17. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.031>
- Mommsen TP (2004) Salmon spawning migration and muscle protein metabolism: the August Krogh principle at work. *Comp Biochem Physiol B* 139:383–400. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.09.018>

- Mommsen TP, French CJ, Hochachka PW (1980) Sites and patterns of protein and amino acid utilization during the spawning migration of salmon. *Can J Zool* 58:1785–1799. <https://doi.org/10.1139/z80-246>
- Moran D, Gara B, Wells RMG (2007) Energetics and metabolism of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi* Valenciennes 1833) during embryogenesis. *Aquaculture* 265:359–369. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.02.003>
- Morel F, Doussiere J, Vignais PV (1991) The superoxide-generating oxidase of phagocytic cells: physiological, molecular and pathologic aspects. *Eur J Biochem* 201:523–546. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1991.tb16312.x>
- Moskovitz J, Bar-Noy S, Williams WM, Requena J, Berlett BS, Stadtman ER (2001) Methionine sulfoxide reductase (MsrA) is a regulator of antioxidant defense and lifespan in mammals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:12920–12925. <https://doi.org/10.1073/pnas.231472998>
- Mrozek A, Karolak-Wojciechowska J, Kieć-Kononowicz K (2003) Five-membered heterocycles. Part III. Aromaticity of 1,3-imidazole in 5+ n hetero-bicyclic molecules. *J Mol Struct* 655:397–403. [https://doi.org/10.1016/S0022-2860\(03\)00282-5](https://doi.org/10.1016/S0022-2860(03)00282-5)
- Mulero I, Sepulcre MP, Meseguer J, García-Ayala A, Mulero V (2007) Histamine is stored in mast cells of most evolutionarily advanced fish and regulates the fish inflammatory response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:19434–19439. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704535104>
- Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA (2012) Harper's illustrated biochemistry, 29th edn. McGraw-Hill Education, New York
- Mylonas CC, Papandroulakis N, Smboukis A, Papadaki M, Divanach P (2004) Induction of spawning of cultured greater amberjack (*Seriola dumerili*) using GnRH α implants. *Aquaculture* 237:141–154. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.04.015>
- Nagai K, Luisi B, Shih D, Miyazaki G, Imai K, Poyart C, De Young A, Kwiatkowski L, Noble RW, Lin S-H, Yu N-T (1987) Distal residues in the oxygen binding site of haemoglobin studied by protein engineering. *Nature* 329:858–860. <https://doi.org/10.1038/329858a0>
- Naz M (2009) Ontogeny of biochemical phases of fertilized eggs and yolk sac larvae of Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.). *Turk J Fish Aquat Sci* 9
- Norval NK, Gibbs NK, Gilmour J (1995) The role of urocanic acid in UV-induced immunosuppression: recent advances (1992–1994). *Photochem Photobiol* 62:209–217. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1995.tb05261.x>
- Novak N, Mete N, Bussmann C, Maintz L, Bieber T, Akdis M, Zumkehr J, Jutel M, Akdis CA (2012) Early suppression of basophil activation during allergen-specific immunotherapy by histamine receptor 2. *J Allergy Clin Immunol* 130:1153–1158. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.04.039>
- Nowicka-Bauer K, Nixon B (2020) Molecular changes induced by oxidative stress that impair human sperm motility. *Antioxidants* 9:134. <https://doi.org/10.3390/antiox9020134>
- Ogata H (2002) Muscle buffering capacity of yellowtail fed diets supplemented with crystalline histidine. *J Fish Biol* 61:1504–1512. <https://doi.org/10.1006/jfbi.2002.2169>
- Ogata HY, Konno S, Silverstein JT (1998) Muscular buffering capacity of the parr and smolts in *Oncorhynchus masou*. *Aquaculture* 168:303–310. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00357-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00357-3)
- Ohkubo N, Matsubara T (2002) Sequential utilization of free amino acids, yolk proteins and lipids in developing eggs and yolk-sac larvae of barfin flounder *Verasper moseri*. *Mar Biol* 140:187–196. <https://doi.org/10.1007/s00227-0100647>
- Ohkubo N, Sawaguchi S, Nomura K, Tanaka H, Matsubara T (2008) Utilization of free amino acids, yolk protein and lipids in developing eggs and yolk-sac larvae of Japanese eel *Anguilla japonica*. *Aquaculture* 282:130–137. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.017>
- Öhrvik H, Logeman B, Turk B, Reinheckel T, Thiele DJ (2016) Cathepsin protease controls copper and cisplatin accumulation via cleavage of the Ctr1 metal-binding ectodomain. *J Biol Chem* 291:13905–13916. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.731281>
- Olson JS, Mathews AJ, Rohlfis RJ, Springer BA, Egeberg KD, Sligar SG, Nagai K (1988) The role of the distal histidine in myoglobin and haemoglobin. *Nature* 336:265–266. <https://doi.org/10.1038/336265a0>
- Orsetti V (2007) Molecular studies of piscine hatching enzymes: choriolysin gene structure and expression. BSc Thesis. Univ. Stud. Padova, Padua
- Oskertizian CA (2012) Mast cells and wound healing. *Adv Wound Care* 1:23–28. <https://doi.org/10.1089/wound.2011.0357>

- Papandroulakis N, Mylonas CC, Maingot E, Divanach P (2005) First results of greater amberjack (*Seriola dumerili*) larval rearing in mesocosm. *Aquaculture* 250:155–161. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.02.036>
- Peacey L, Elphick MR, Jones CE (2019) Roles of copper in neurokinin B and gonadotropin-releasing hormone structure and function and the endocrinology of reproduction. *Gen Comp Endocrinol* 287:113342. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2019.113342>
- Peachey BL, Scott EM, Gatlin DM (2018) Dietary histidine requirement and physiological effects of dietary histidine deficiency in juvenile red drum *Sciaenop ocellatus*. *Aquaculture* 483:244–251. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.10.032>
- Peng S, Chen C, Shi Z, Wang L (2013) Amino acid and fatty acid composition of the muscle tissue of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and bigeye tuna (*Thunnus obesus*). *J Food Nutr Res* 1:42–45. <https://doi.org/10.12691/jfnr-1-4-2>
- Phan HAT, Giannakoulis SG, Barrett TM, Liu C, Petersson EJ (2021) Rational design of thioamide peptides as selective inhibitors of cysteine protease cathepsin L. *Chem Sci* 12:10825–10835. <https://doi.org/10.1039/D1SC00785H>
- Poon IK, Patel KK, Davis DS, Parish CR, Hulett MD (2011) Histidine-rich glycoprotein: the Swiss army knife of mammalian plasma. *Blood* 117:2093–2101. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-09-303842>
- Qari AS, Moharram G, Alowaidi A (2013) Amino acids profile in gonads of the red sea fish *Rhabdosargus sarba* during breeding season. *Int J Pharm Biomed Sci* 2:51–59. <https://doi.org/10.12980/JCLM.2.201414J21>
- Ramos-Pinto L, Machado M, Caldach-Giner JA, Pérez-Sánchez J, Dias J, Conceição LEC, Silva TS, Costas B (2021) Dietary histidine, threonine, or taurine supplementation affects gilthead seabream (*Perca fluviatilis*) immune status. *Animals* 11:1193. <https://doi.org/10.3390/ani11051193>
- Reber LL, Sibillano R, Mukai K, Galli SJ (2015) Potential effector and immunoregulatory functions of mast cells in mucosal immunity. *Mucosal Immunol* 8:444–463. <https://doi.org/10.1038/mi.2014.131>
- Reilly SK, Da Fabo EC (1991) Dietary histidine increases mouse skin urocanic acid levels and enhances UVB-induced immune suppression of contact hypersensitivity. *Photochem Photobiol* 53:431–438. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1991.tb03653.x>
- Remko M, Fitz D, Rode BM (2010) Effect of metal ions (Li+, Na+, K+, Mg2+, Ca2+, Ni2+, Cu2+ and Zn2+) and water coordination on the structure and properties of l-histidine and zwitterionic l-histidine. *Amino Acids* 39:1309–1319. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0573-8>
- Remo SC, Olsvik PA, Torstensen BE, Amlund H, Breck O, Waagbø R (2011) Susceptibility of Atlantic salmon lenses to hydrogen peroxide oxidation ex vivo after being fed diets with vegetable oil and methylmercury. *Exp Eye Res* 92:414–424. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2011.02.018>
- Remo SC, Høyvold EM, Olsvik PA, Fontanillas R, Breck O, Waagbø R (2014) Dietary histidine requirement to reduce the risk and severity of cataracts is higher than the requirement for growth in Atlantic salmon smolts, independently of the dietary lipid source. *Br J Nutr* 111:1759–1772. <https://doi.org/10.1017/S0007114513004418>
- Reznik N, Gallo AD, Rush KW, Javitt G, Fridmann-Sirkis Y, Ilani T, Nairner NA, Fishilevich S, Gokhman D, Chacón KN, Franz KJ, Fass D (2022) Intestinal mucin is a chaperone of multivalent copper. *Cell* 185:4206–4215. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.09.021>
- Rodríguez-Barreto D, Jerez S, Cejas JR, Martín MV, Acosta NG, Bolaños A, Lorenzo A (2012) Comparative study of lipid and fatty acid composition in different tissues of wild and cultured female broodstock of greater amberjack (*Seriola dumerili*). *Aquaculture* 360:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.07.013>
- Rodríguez-Barreto D, Jerez S, Cejas JR, Martín MV, Acosta NG, Bolaños A, Lorenzo A (2014) Ovary and egg fatty acid composition of greater amberjack broodstock (*Seriola dumerili*) fed different dietary fatty acids profiles. *Eur J Lipid Sci Technol* 116:584–595. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300462>
- Rønnestad I, Fyhn HJ (1993) Metabolic aspects of free amino acids in developing marine fish eggs and larvae. *Rev Fish Sci* 1:239–259. <https://doi.org/10.1080/10641269309388544>
- Rønnestad I, Fyhn HJ, Gravningen K (1992) The importance of free amino acids to the energy metabolism of eggs and larvae of turbot (*Scophthalmus maximus*). *Mar Biol* 114:517–525. <https://doi.org/10.1007/BF00350038>
- Rønnestad I, Thorsen A, Finn RN (1999) Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids. *Aquaculture* 177:201–216. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00082-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00082-4)

- Rønnestad I, Tonheim SK, Fyhn HJ, Rojas Garcia CR, Kamisaka Y, Koven W (2000) The supply of amino acids during early feeding stages of marine fish larvae: a review of recent findings. *Aquaculture* 227:147–164. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00500-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00500-3)
- Roo J, Fernández-Palacios H, Hernández-Cruz CM, Mesa-Rodríguez A, Schuchardt D, Izquierdo M (2014) First results of spawning and larval rearing of longfin yellowtail *Seriola rivoliana* as a fast-growing candidate for European marine finfish aquaculture diversification. *Aquac Res* 45:689–700. <https://doi.org/10.1111/are.12007>
- Roszbach K, Schaper K, Kloth C, Gutzmer R, Werfel T, Kietzmann M, Bäumer W (2015) Histamine H4 receptor knockout mice display reduced inflammation in a chronic model of atopic dermatitis. *Allergy*. <https://doi.org/10.1111/all.12779>
- Rungruangsak-Torrissen K, Fosseidengen JE (2007) Effect of artificial feeding on digestive efficiency, growth and qualities of muscle and oocyte of maturing Atlantic mackerel (*Scomber scombrus* L.). *J Food Biochem* 31:726–747. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2007.00139.x>
- Saavedra M, Pereira TG, Ribeiro L, Barata M, Candeias-Mendes A, Conceição LEC, Pousão-Ferreira P (2020) Evaluation of dietary histidine supplementation on meagre, *Argyrosomus regius*, juvenile growth, haematological profile, stress and muscle cellularity. *Aquac Nutr* 26:1223–1230. <https://doi.org/10.1111/anu.13078>
- Saleh RA, Agarwal A (2002) Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *J Androl* 23:737–752. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2002.tb02324.x>
- Salim S, Ali AS, Ali SA (2012) On the role of histamine receptors in regulating pigmentary responses in *Oreochromis mossambicus* melanophores. *J Recept Signal Transduct Res* 32:314–320. <https://doi.org/10.3109/10799893.2012.729061>
- Salze GP, Davis DA, Stuart K, Drawbridge M (2019) Effect of dietary taurine in the performance of broodstock and larvae of California yellowtail *Seriola dorsalis*. *Aquaculture* 511:734262. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734262>
- Samaee SM, Lahnsteiner F, Gimenez G, Estévez A, Sarg B, Linder H (2009) Quantitative composition of vitellogenin-derived yolk proteins and their effects on viability of embryos and larvae of common dentex (*Dentex dentex*) a marine pelagophil teleost. *J Exp Zool A Ecol Genet Physiol* 311:504–520. <https://doi.org/10.1002/jez.549>
- Samaee SM, Mente E, Estévez A, Giménez G, Lahnsteiner F (2010) Embryo and larva development in common dentex (*Dentex dentex*), a pelagophil teleost: the quantitative composition of egg-free amino acids and their interrelations. *Theriogenology* 73:909–919. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.11.017>
- Sarih S, Djellata A, Roo J, Hernández-Cruz CM, Fontanillas R, Rosenlund G, Izquierdo M, Fernández-Palacios H (2019) Effects of increased protein, histidine and taurine dietary levels on egg quality of greater amberjack (*Seriola dumerili*, Risso, 1810). *Aquaculture* 499:72–79. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.09.011>
- Sarih S (2019) Influence of hormonal induction and brood- (*Seriola dumerili*, Risso, 1810) and spawning quality of greater amberjack stock nutrition on reproductive performance. PhD Thesis. Univ. Las Palmas Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria.
- Schmehl MK, Graham EF, Erdahl DA (1987) Chemical constituents of trout seminal plasma after minimal and maximal cell damage treatments with possible applications to semen evaluation assays. *Aquaculture* 62:311–318. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(87\)90173-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90173-6)
- Schneider F (1978) Histidine in enzyme active centers. *Angew Chem Int Ed Engl* 17:583–592. <https://doi.org/10.1002/anie.197805831>
- Sealfon SC, Weinstein H, Millar RP (1997) Molecular mechanisms of ligand interaction with the gonadotropin-releasing hormone receptor. *Endocr Rev* 18:180–205. <https://doi.org/10.1210/edrv.18.2.0295>
- Sheiner JB, Morris P, Anderson GH (1985) Food intake suppression by histidine. *Pharmacol Biochem Behav* 23:721–726. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(85\)90061-9](https://doi.org/10.1016/0091-3057(85)90061-9)
- Sire MF, Babin PJ, Vernier JM (1994) Involvement of the lysosomal system in yolk protein deposit and degradation during vitellogenesis and embryonic development in trout. *J Exp Zool* 269:69–83. <https://doi.org/10.1002/jez.1402690109>
- Skjærven KH, Mommens M, Adam AC, Saito T, Oveland E, Espe M (2022) Earlier or delayed seasonal broodstock spawning changes nutritional status and metabolic programming of growth for next-generation Atlantic salmon. *Aquaculture* 554:738187. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738187>

- Skulachev VP (1978) Membrane-linked energy buffering as the biological function of Na⁺/K⁺ gradient. FEBS Lett 87:171–179. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(78\)80326-3](https://doi.org/10.1016/0014-5793(78)80326-3)
- Smith MB (2007) March's advanced organic chemistry: reactions, mechanisms, and structure. Wiley-Interscience, New York
- Somero GN (1986) Protons, osmolytes, and fitness of internal milieu for protein function. Am J Physiol 251:R197–R213. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1986.251.2.R197>
- Song BC, Joo NS, Aldini G, Yeum KJ (2014) Biological functions of histidine-dipeptides and metabolic syndrome. Nutr Res Pract 8:3–10. <https://doi.org/10.4162/nrp.2014.8.1.3>
- Sóvágó I, Várnagy K, Lihi N, Grenács Á (2016) Coordinating properties of peptides containing histidyl residues. Coord Chem Rev 327:43–54. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2016.04.015>
- St John AL, Abraham SN (2013) Innate immunity and its regulation by mast cells. J Immunol 190:4458–4463. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1203420>
- Stryer L, Berg JM, Tymoczko JL (2002) Biochemistry. In: Macmillan (ed) Biochemistry, 5th edn. W. H. Freeman & Co., New York, pp 986.
- Stuart KR, Drawbridge MA (2013) Captive spawning and larval rearing of California yellowtail (*Seriola lalandi*). Aquacult Res 44:728–737. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.03077.x>
- Stuart K, Johnson R, Armbruster L, Drawbridge M (2018) Arachidonic acid in the diet of captive yellowtail and its effects on egg quality. N Am J Aquacult 80:97–106. <https://doi.org/10.1002/naaq.10003>
- Sundvik M, Kudo H, Toivonen P, Rozov S, Chen YC, Panula P (2011) The histaminergic system regulates wakefulness and orexin/hypocretin neuron development via histamine receptor H1 in zebrafish. FASEB J 25:4338–4347. <https://doi.org/10.1096/fj.11-188268>
- Suyama M (1973) Free amino acid composition of the skeletal muscle of migratory fish. Bull Jpn Soc Sci Fish 39:1339–1343. <https://doi.org/10.2331/suisan.39.1339>
- Tanahashi T, Tsuchihashi Y, Sakamiya AK, Yano T (2014) Metabolomic approach using ultra-high-performance liquid chromatography-mass spectrometry: quantitative amino acid analysis and characterization of four species of marine fish, and cuttlefish. Int J Anal Bio-Sci 2:77–86
- Teles A (2019) Impacto de la administración de levaduras vivas sobre el crecimiento, diferenciación celular y desarrollo del esqueleto en larvas de *Seriola rivoliana*. PhD Thesis. CIBNOR, La Paz.
- Thakur D, Morioka K, Itoh N, Wada M, Itoh Y (2009) Muscle biochemical constituents of cultured amberjack *Seriola dumerili* and their influence on raw meat texture. Fish Sci 75:1489–1498. <https://doi.org/10.1007/s12562-009-0173-2>
- Topaloglu AK, Reimann F, Guclu M, Yalin AS, Kotan LD, Porter KM, Serin A, Mungan NO, Cook JR, Imamoglu S, Akalin NS, Yuksel B, O'Rahilly S, Semple RK (2009) TAC3 and TACR3 mutations in familial hypogonadotropic hypogonadism reveal a key role for neurokinin B in the central control of reproduction. Nat Genet 41:354–358. <https://doi.org/10.1038/ng.306>
- Torres N, Tobón-Cornejo S, Velazquez-Villegas LA, Noriega LG, Alemán-Escondrillas G, Tovar AR (2023) Amino acid catabolism: an overlooked area of metabolism. Nutrients 15:3378. <https://doi.org/10.3390/nu15153378>
- Uchida K (2003) Histidine and lysine as targets of oxidative modification. Amino Acids 25:249–257. <https://doi.org/10.1007/s00726-003-0015-y>
- Valderrama-Díaz JA (2014) Determinación de la actividad catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD) en embriones de yamú (*Brycon amazonicus*) conservados a -14°C. Licenciatura Thesis. Univ. La Salle, Bogotá.
- Vallejo AN Jr, Ellis AE (1989) Ultrastructural study of the response of eosinophil granule cells to *Aeromonas salmonicida* extracellular products and histamine liberators in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. Dev Comp Immunol 13:133–148. [https://doi.org/10.1016/0145-305X\(89\)90028-1](https://doi.org/10.1016/0145-305X(89)90028-1)
- Vassallo-Agius R, Imaizumi H, Watanabe T, Yamazaki T, Satoh S, Kiron V (2001) Effect of squid meal in dry pellets on the spawning performance of striped jack *Pseudocaranx dentex*. Fish Sci 67:271–280. <https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2001.00249.x>
- Wade AM, Tucker HN (1998) Antioxidant characteristics of l-histidine. J Nutr Biochem 9:308–315. [https://doi.org/10.1016/s0955-2863\(98\)00022-9](https://doi.org/10.1016/s0955-2863(98)00022-9)
- Watanabe T, Taguchi Y, Shiosaka S, Tanaka J, Kubota H, Terano Y, Tohyama M, Wada H (1984) Distribution of the histaminergic neuron system in the central nervous system of rats; a fluorescent immunohistochemical analysis with histidine decarboxylase as marker. Brain Res 295:13–25. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(84\)90811-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(84)90811-4)

- Wiedenneft B, Mosolf J, Willits D, Yeager M, Dryden KA, Young M, Douglas T (2005) An archaeal antioxidant: characterization of a Dps-like protein from *Sulfolobus solfataricus*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:10551–10556. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501497102>
- Wood JD, Duncan DW, Jackson M (1960) Biochemical studies on sockeye salmon during spawning migration, XI. The free histidine content of the tissues. *J Fish Res Board Can* 17:347–351. <https://doi.org/10.1139/f60-026>
- Yamamoto T, Matsunari H, Oku H, Murashita K, Yoshinaga H, Furuita H (2019) Supplemental effects of histidine to fishmeal-based and low-fishmeal diets on the growth performance and tissue free amino acid levels of fingerling yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Aquac Sci* 67:367–375. <https://doi.org/10.11233/aquaculturesci.67.367>
- Yao H, Gao W, Zhang J, Cao M, Xiao W, Dong L, Tian J (2024) Effects of dietary histidine on growth, non-specific immune and ovarian development of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Aquac Rep* 36:102157. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102157>
- Zakeri M, Marammazi JG, Haghi M (2014) Dietary indispensable amino acid concentrations based on amino acid profiles of broodstock, eggs and larvae in yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus*. *J Persian Gulf* 5:1–14
- Zehra S, Khan MA (2015) Dietary histidine requirement of fingerling *Catla catla* (Hamilton) based on growth, protein gain, histidine gain, RNA/DNA ratio, haematological indices and carcass composition. *Aquac Res* 47:1028–1039. <https://doi.org/10.1111/are.12558>
- Zhou H, Leng XQ, Tan QS, Du H, Wu JP, Liang XF, Zhang Y, Liu H, Wei Q (2017) Identification of key nutrients for gonadal development by comparative analysis of proximate composition and fatty/amino acid profile in tissues and eggs of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray, 1835). *J Appl Ichthyol* 33:885–891. <https://doi.org/10.1111/jai.13401>
- Zhu Y, Wu JJ, Leng X, Du H, Wu JJ, He S, Lou J, Liang X, Liu H, Wei Q, Tan Q (2020) Metabolomics and gene expressions revealed the metabolic changes of lipid and amino acids and the related energetic mechanism in response to ovary development of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*). *PLoS ONE* 15:1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235043>
- Zini A, De Lamirande E, Gagnon C (1995) Low levels of nitric oxide promote human sperm capacitation in vitro. *J Androl* 16:424–431. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.1995.tb00558.x>
- Zs.-Nagy I, Floyd RA (1984) Hydroxyl free radical reactions with amino acids and proteins studied by electron spin resonance spectroscopy and spin-trapping. *Biochim Biophys Acta* 790:238–250. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(84\)90028-1](https://doi.org/10.1016/0167-4838(84)90028-1)
- Zupa R, Rodríguez C, Mylonas CC, Rosenfeld H, Fakriadis I, Papadaki M, Pérez JA, Pousis C, Basilone G, Corriero A (2017) Comparative study of reproductive development in wild and captive-reared greater amberjack *Seriola dumerili* (Risso, 1810). *PLoS ONE* 12:e0169645. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169645>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

Authors and Affiliations

**Lizbeth Y. Macías-Reyes¹ · Minerva C. Maldonado-García¹ ·
Milton Spanopoulos-Zarco³ · Daríel Tovar-Ramírez¹ · Alexia Omont³ ·
Deneb Maldonado-García² **

✉ Deneb Maldonado-García
denebm@cibnor.mx

¹ Programa de Acuicultura, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), La Paz, B.C.S., Mexico

² Departamento de Ingeniería en Pesquerías, Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS), La Paz, B.C.S., Mexico

³ Secihti - Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), La Paz, B.C.S., Mexico

Anexo B.-Artículo sometido.-Effects of histidine supplementation in juvenile *S. rivoliana* diet on their growth and immune response.

Aquaculture

Effects of histidine supplementation in juvenile *S. rivoliana* diet on their growth and immune response. --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	AQUACULTURE-D-26-03085
Article Type:	Research Paper
Section/Category:	Nutrition (Vertebrate and Invertebrate)
Keywords:	histidine; Mineralization; Mucin; Anti-Inflammatory
Corresponding Author:	Lizbeth Yanessa Macias Reyes, M.D. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste La Paz, Baja California Sur MEXICO
First Author:	Lizbeth Yanessa Macias Reyes, M.D.
Order of Authors:	Lizbeth Yanessa Macias Reyes, M.D.
	Minerva C. Maldonado-García
	Milton Spanopoulos Zarco
	Daniel Tovar-Ramírez, PhD
	Alexia Omont
	Deneb Maldonado García
Abstract:	<i>Seriola rivoliana</i> is a fast-growing marine species with high potential for aquaculture diversification. However, its specific nutritional requirements, particularly during the juvenile stage, remain poorly defined. This study evaluated the effects of three levels of dietary histidine supplementation (0%, 1%, and 2% added on top of a commercial reference diet) on growth performance, intestinal health, and skeletal development in juvenile <i>S. rivoliana</i>. Fish fed histidine-supplemented diets showed improved final length, survival, and biomass compared to the control group (0%). Histidine supplementation significantly enhanced intestinal morphology, with increased villus height and goblet cell abundance, indicating improved absorptive and protective capacity. Histidine also promoted vertebral elongation and mineralization, suggesting a role in axial skeletal development. Hematological analysis revealed elevated hematocrit values in histidine-fed groups, pointing to enhanced oxygen-carrying capacity. These findings demonstrate that dietary histidine plays a key role in optimizing growth, nutrient assimilation, and skeletal integrity in <i>S. rivoliana</i>, and should be considered in the formulation of nutritionally balanced diets for this species.
Opposed Reviewers:	

June 24, 2026

**Aquaculture
Editorial Office**

Dear Chief Editor,

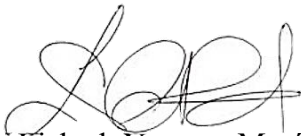
We are pleased to submit our manuscript entitled “Effects of histidine supplementation in juvenile *S. rivoliana* diet on their growth and immune response” by Lizbeth Y. Macías-Reyes, Milton Spanopoulos Zarco, Minerva C. Maldonado-García, Daríel Tovar-Ramírez, Alexia Omont, and Deneb Maldonado García for consideration in Aquaculture.

This study evaluates the effects of dietary histidine supplementation in juvenile *Seriola rivoliana*, focusing on growth performance, intestinal morphology, immune response, and physiological condition. Although histidine is recognized as an essential amino acid in *Seriola* nutrition, its physiological functions beyond growth remain poorly understood. Our results showed that histidine supplementation did not significantly affect final weight, specific growth rate, feed conversion ratio, or condition factor. However, it promoted important intestinal and physiological changes, including increased mucin production, reduced intestinal wall thickness, modulation of immune-related gene expression, and improvements in body length, survival, and final biomass.

These findings suggest that the benefits of histidine are primarily associated with enhanced intestinal health and physiological resilience rather than direct stimulation of muscle growth. By integrating growth, histological, biochemical, and molecular analyses, this work provides new insights into the functional role of histidine in *Seriola* culture and contributes valuable information for the development of more efficient and sustainable nutritional strategies for marine aquaculture.

We believe this manuscript aligns well with the scope of Aquaculture and will contribute meaningfully to the field. All listed authors meet the authorship criteria, have approved the final version of the manuscript, and declare no competing interests. This work is original and is not under consideration elsewhere.

Thank you for your time and consideration. We look forward to your feedback.



M.C. Lizbeth Yanessa Macías Reyes

Author

CIBNOR, La Paz, BCS, Mexico

June 24, 2026

Highlights

1. Adequate histidine intake is essential; its over-supplementation does not appear to translate into measurable gains in somatic growth under standard rearing conditions.
2. A dietary histidine level of ~2% supports peak SGR in *Seriola*, marking an adequate intake threshold.
3. Histidine stabilizes gut immunity and prevents unnecessary inflammation.
4. Dietary histidine supplementation is associated with increased body elongation in *Seriola rivoliana*, suggesting a preferential effect on linear growth rather than somatic weight gain

Effects of histidine supplementation in juvenile *S. rivoliana* diet on their growth and immune response.

Lizbeth Y. Macías-Reyes^a, Minerva C. Maldonado-García^a, Milton Spanopoulos Zarco^c

Dariel Tovar-Ramírez^a, Alexia Omont^c & Deneb Maldonado García^b

^aCentro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), (Aquaculture), La Paz, (B.C.S.), México

^bSecihti- Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), (Aquaculture), La Paz, (B.C.S.), México

^c Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS), (Departamento de Ingeniería en Pesquerías), La Paz, (B.C.S.), México

Corresponding author: Milton Spanopoulos Zarco (m.zarco@uabcs.mx)

ORCID: [0009-0005-4813-5574](#)

ABSTRACT. *Seriola rivoliana* is a fast-growing marine species with high potential for aquaculture diversification. However, its specific nutritional requirements, particularly during the juvenile stage, remain poorly defined. This study evaluated the effects of three levels of dietary histidine supplementation (0%, 1%, and 2% added on top of a commercial reference diet) on growth performance, intestinal health, and skeletal development in juvenile *S. rivoliana*. Fish fed histidine-supplemented diets showed improved final length, survival, and biomass compared to the control group (0%). Histidine supplementation significantly enhanced intestinal morphology, with increased villus height and goblet cell abundance, indicating improved absorptive and protective capacity. Histidine also promoted vertebral elongation and mineralization, suggesting a role in axial skeletal development. Hematological analysis revealed elevated hematocrit values in histidine-fed groups, pointing to enhanced oxygen-carrying capacity. These findings demonstrate that dietary histidine plays a key role in optimizing growth, nutrient assimilation, and skeletal integrity in *S. rivoliana*, and should be considered in the formulation of nutritionally balanced diets for this species.

Keywords: histidine; Histidine; Mineralization; Mucin; Anti-Inflammatory.

Highlights

1. Adequate histidine intake is essential; its over-supplementation does not appear to translate into measurable gains in somatic growth under standard rearing conditions.
2. A dietary histidine level of ~2% supports peak SGR in *Seriola*, marking an adequate intake threshold.
3. Histidine stabilizes gut immunity and prevents unnecessary inflammation.
4. Dietary histidine supplementation is associated with increased body elongation in *Seriola rivoliana*, suggesting a preferential effect on linear growth rather than somatic weight gain

INTRODUCTION

Seriola rivoliana, commonly known as longfin yellowtail or kampachi, has gained increasing attention in aquaculture over the past two decades, particularly in countries such as the United States, Mexico, and Panama (FAO, 2024; Nakada, 2008). This species is highly appreciated due to its rapid growth rate, excellent flesh quality, adaptability to captive conditions, and high commercial value (Nakada, 2000; Pastor et al., 2000; Harris et al., 2007, Sicuro and Luzzana, 2016). As aquaculture production of *S. rivoliana* remains in a developmental stage, especially during early life phases, optimizing husbandry practices—particularly nutrition and essential amino acid balance—is essential to ensure sustainable and efficient production.

Seriola rivoliana is a relatively new species in aquaculture, and little is known about its nutritional requirements. Given its high growth rates, this species is especially susceptible to nutritional deficiencies. Failure to meet its dietary requirements can result in impaired growth, skeletal deformities, and immunosuppression (Mesa-Rodríguez et al., 2016; Prabhu et al., 2016; Severin et al., 2016). These effects may be exacerbated when fish are fed low-fishmeal diets. Inadequate nutrition not only compromises growth performance but also leads to hematological and immunological alterations, increasing sensitivity to environmental stressors such as temperature fluctuations, hypoxia, handling, and high stocking densities (Khan and Abidi, 2009). Collectively, these factors reduce overall condition, elevate physiological stress, and negatively impact on both fish health and the economic and environmental sustainability of aquaculture operations (Monge-Ortiz et al., 2018). Consequently, identifying nutritional strategies that enhance growth efficiency, improve physiological condition, and mitigate stress is essential for the successful farming of this species.

In recent years, dietary additives such as tilapia fry, marine by-products, amino acids (histidine, taurine and tryptophan), fatty acids, and vitamin E (α -tocopherol) have been evaluated in different fish species to improve growth performance (Asencio-Alcudia, 2021; Benitez-Hernández et al., 2017; Booth and Pirozzi, 2022; Dörner, 2018; Hernández-de Dios et al., 2024; Ogata, 2002; Pineda and Zambrano, 2022; Yamamoto et al., 2019). Among these, histidine, an essential amino acid in fish, has shown promising effects due to its essential role in metabolism and cellular function (Peacey et al., 2019; Sarih et al., 2019; Brosnan and Brosnan, 2020; Djellarta, 2021, Khan and Abidi, 2019). Positive responses to histidine supplementation have been observed in juveniles of *S. quinqueriata*, *S. lalandi*, *O. tshawytscha*, *O. kisutch*, *Sciaenops ocellatus*, *Catla catla*, and *Pseudosciaena crocea*, improving final body weight, feed conversion efficiency, condition factor and hematocrit values, reflecting improved metabolic efficiency and physiological condition (Klein and Halver, 1970, Li et al., 2014; Zehra and Khan, 2016; Peachey et al., 2018, Yamamoto et al., 2019; Booth and Pirozzi, 2022).

The beneficial effects of histidine stem from its unique biochemical properties. Histidine exhibits the highest chelation capacity among amino acids due to its imidazole ring, which facilitates metal coordination under physiological pH (Brosnan and Brosnan, 2020). It also serves as a precursor to histamine, a regulator of inflammatory and immune responses essential for maintaining intestinal homeostasis (Galindo-Villegas et al., 2016, Booth and Pirozzi, 2022). Additionally, histidine acts as a pH buffer through reversible binding of hydrogen ions, and as an antioxidant by scavenging reactive oxygen and nitrogen species, thereby protecting cells from acidification and oxidative stress (Wade and Tucker, 1998; Vaughan-Jones et al., 2009). Its catabolism contributes to energy metabolism through its conversion to glutamate, which is subsequently converted into α -ketoglutarate and enters the Krebs cycle. Moreover, histidine is involved in metal ion binding in hormones (e.g., gonadotropin II, Neurokinin B), metalloenzymes (e.g., superoxide dismutase, catalase), and structural proteins (e.g., hemoglobin), enhancing various physiological functions (Gul et al., 2018; Orsetti, 2007; Sóvágó et al., 2016; Poon et al., 2011; Berenbrink, 2016).

In this context, the present study aims to evaluate dietary histidine requirements on growth and health of *Seriola rivoliana* juveniles through an experimental trial involving diets with graded levels of this amino acid, evaluating its impact on fish growth and health.

Materials and methods

Experimental diets

The basal diet consisted of Nutec® brand commercial feed (control). Two supplemented diets were prepared by adding graded levels of L-Histidine HCl (MERCK®) to the basal commercial diet, resulting in final histidine concentrations of 2.03% (S1) and 2.81% (S2) on a dry weight basis. The basal feed was ground in a TORE brand mill

until flour was obtained, simultaneously the amount corresponding to each treatment of the amino acid was dissolved in 1 L of purified water. In a Kitchen Aid blender, the flour was mixed with the solution of L-Histidine HCL and 416 ml purified water was added per kg of flour. The new dough was extruded, and the extruded ones were dried in a VWR convection oven at a temperature of 30°C for 12 hours. Once dried, the extruded products were fractionated and sieved into four size classes: 3 mm in diameter × 2.8 mm in length, 3 × 4 mm, 5 × 4 mm, and 5 × 8 mm.

Proximal chemical analysis was performed on the feed. The percentage of moisture was determined by weight loss by subjecting the feed to 105°C in an oven Terlab, Zapopan, Jalisco, México for 4 hours. The percentage of ash was determined by incineration of the sample in a muffle at 600 °C for 5 h. The percentage of proteins was determined by the Dumas method in a LECO FP528 equipment. The percentage of lipids was determined using the Soxtec method with a Soxtec Avanti 2050 system. Crude fiber content was analyzed by acid–alkaline digestion using a Fibertec 2010/1020 system. Nitrogen-free extract (NFE) was calculated by difference as 100 – (crude protein + lipids + ash). The amino acid profile was determined by HPLC. The histidine composition and macronutrient percentages of the diets are shown in Table 1 and the amino acid profile in Table 2.

Table 1 Proximate analysis of control and supplemented feeds.

Analysis	Treatments		
	Control	S1	S2
Protein	48.74±0.27	48.88±0.52	49.47±0.09
Lipids	21.12±0.43	21.66±0.32	20.29±0.12
Ashes	10.31±0.17	10.11±0.02	10.28±0.18
Moisture	7.16±0.06	7.25±0.03	6.93±0.60
NFE	12.67	12.10	13.03

Table 2 Essential and non-essential amino acids in diet (% dry weight)

AA	Treatments		
	Control	S1	S2
Histidine	1.335	2.034	2.810
Glutamic acid	3.526	3.571	4.007
Aspartic acid	3.831	3.897	3.948
Serine	1.717	1.723	1.747
Glycine	1.669	1.397	1.719
Threonine	2.158	2.104	2.196
Alanine	1.930	1.916	1.927
Arginine	2.186	2.048	2.246
Tyrosine	1.747	1.586	1.538
Valine	2.058	1.852	1.943
Phenylalanine	1.978	1.863	1.833
Isoleucine	1.995	1.792	1.871
Leucine	2.810	2.526	2.678
Lysine	3.667	3.664	3.619
Proline	3.027	2.787	2.796

Bioassay

The three diets were evaluated in triplicate (n=3) for 60 days: Control, S1 and S2. Each replica consisted of a 3 m³ fiberglass tank provided with continuous aeration (dissolved oxygen, $8.3 \pm 0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), and stable conditions of temperature ($24.03 \pm 0.06 \text{ }^{\circ}\text{C}$), salinity ($35.2 \pm 1.2 \text{ psu}$) and pH (7.20 ± 0.07), under a photoperiod of 10:14 h light:dark. Sea water exchange was continuous at $3.6 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, corresponding to a turnover rate of 1.73 tank volumes per day ($\approx 173\%$ per day)

Juveniles of *S. rivoliana* were obtained from King Kampachi®, La Paz, Baja California Sur. 70 organisms of $23 \pm 3 \text{ g}$ of average weight was placed per unit, resulting in a stocking density of $0.53 \text{ kg} \cdot \text{m}^3$. The percentage of feeding was 5% of the biomass of each pond and was carried out manually 4 times a day. The pellet size varied according to the development of the organisms, 3 mm in diameter $\times$ 2.8 mm in length in organism from 23 to 37 gr, $3 \times 4 \text{ mm}$ in organism from 37 to 77 gr, $5 \times 4 \text{ mm}$ in organism from 78 to 101 gr, and $5 \times 8 \text{ mm}$ in organism from 102 to 140 gr.

Sampling and analysis

At both the beginning and the end of the experimental period, 20 fish from each tank were transferred to a 60-L reservoir containing filtered seawater, previously disinfected with sodium hypochlorite and neutralized with sodium thiosulfate. 60 ml of eugenol oil (Macklin, Shanghai, China) was added to the reservoir to anesthetize the organisms (1.06 g/mL), after which their weight and total length were measured. From the sampled individuals, 10 were returned to their respective experimental units, whereas the remaining 10 fish were maintained in the anesthetic solution until cessation of opercular movement and loss of all reflex activity were confirmed, ensuring a humane endpoint. Tissue samples were then collected for subsequent analyses.

From five organisms designated for dissection, foregut and liver samples were collected and preserved in Davidson's solution at room temperature for subsequent histological analysis. In the remaining five organisms, liver, intestinal fragments and muscle portions were obtained, preserved in RNAlater, and flash-frozen for genomic analyses. Liver fragments were also placed in 2-mL conical tubes and stored at ultra-low temperatures for enzymatic determinations.

Growth parameters

Each two weeks, a subsample of 20 fish was weighed and measured. Based on the data obtained for body weight, total length, feed intake, and survival, the following parameters were calculated: weight gain, specific growth rate, feed conversion ratio, survival rate, and final biomass.

RNA extraction, cDNA synthesis and qPCR

TRIzol RNA Isolation Reagent (Ambion) and a tissue homogenizer (FastPrep-24 5G, M.P. Biomedicals, Santa Ana, California, United States) were used for the extraction of total RNA from the intestines and muscle, according to the manufacturer's instructions. Subsequently, a DNase treatment with RQ1 RNase-Free DNase kit (Promega, Madison, United States) was performed. The concentration and purity of the RNA were determined with NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, United States) and RNA quality was observed on agarose gel (1.5%) with Sybr Safe DNA Gel Stain (Invitrogen, Paisley, United Kingdom). Finally, the Improm II kit (Promega, Madison, Wisconsin, United States) was used for cDNA synthesis following the manufacturer's instructions. The reaction was performed with 2 μg of total RNA in Cyclothermocycler T100 (Bio-Rad, Berkeley, California, United States). The primers used for intestine were *IL-1 β* and *IL-10* and *Myo*, *Act* and *IGF* for muscle, both of them were designed based on

specific for *S. rivoliana* (BioProject: PRJNA756687). Table 3 details the sequences of the primers used for qPCR analyses.

The qPCR was performed using a Bio-Rad CFX 96 thermocycler (BioRad Laboratories, Inc., Hercules, California, United States) to analyze the expression of *IL-1 β* , *IL-10*, and *18S* gene as reference. The qPCR assay was performed in triplicate for each sample, taking a total volume of 10 μ L containing 3- μ L cDNA, 0.16 μ L primers (20 μ M), 5- μ L SSO advanced Sybr Green (BioRad Laboratories, Hercules, California, United States) and 1.84 μ L of sterile water. A negative control (NTC – no template control) was included for each of the reaction sets on each plate (96-well plate). The reactions were incubated using the following conditions: one cycle at 95°C for 30 minutes; 40 cycles at 95°C for 5 minutes; 50°C for 15 minutes, one cycle at 65°C for 5 minutes and 95°C for 5 minutes. To perform the analysis, the normalized relative expression to zero was considered using the BioRad CFX Manager software.

Table 3 Oligonucleotide primers used for the qPCR analysis of target genes of *Seriola rivoliana*

Gen	Oligonucleotides		
	forward	Reverse	Pb
<i>IGF I</i>	GAGCTGCCTTGCTAGTCTT	TGTGGAGAGAGAGGCTTTTA	154
<i>Actin</i>	AAGGAAGACATCGAGAGGAGGA	GTTACTTTCTTCAGCGAGCGG	168
<i>Myosin</i>	GGATATTCACAGAGCCTCTCCG	TCCTTTCATCCACACCACTCTG	171
<i>IL-10</i>	GAAACTACTTCTCCTGCAAGA	CAGACCTTACTCTCCATCTG	217
<i>IL-1β</i>	AGCCAGCAGAGACACTTAG	TGGGTAAAGGTGGCAAGTAG	124
<i>18S</i>	TAAAGGAATTGACGGAAGGGCA	AGACAAATCGCTCCACCAACTA	172

Statistical analyses

Homoscedasticity (F or Bartlett) and normality (Shapiro–Wilk, Kolmogorov–Smirnov) were assessed. Data meeting assumptions were analyzed by one-way ANOVA with Tukey’s post hoc test; otherwise, Wilcoxon and Kruskal–Wallis tests were used. Analyses were performed in STATISTICA.

Results

Zootechnical parameters

Survival differed significantly among treatments. The S2 group showed the highest survival ($98.3 \pm 1.44\%$), significantly greater than both the control ($90 \pm 4.33\%$) and S1 ($90 \pm 0\%$), which did not differ from each other. Final body weight ranged from 133.1 ± 6.3 g (control) to 140.7 ± 9.03 g (S1), with no significant differences. In terms of final length, fish from S2 reached the greatest size (21.09 ± 0.13 cm), significantly higher than the control (20.32 ± 0.15 cm), while S1 (20.72 ± 0.13 cm) showed intermediate values without statistical differences.

Final biomass was significantly higher in S2 ($5,385.4 \pm 102$ g) compared to the control ($4,786.6 \pm 107$ g), whereas S1 ($5,065.6 \pm 325$ g) presented intermediate values, not differing from the other groups. No significant differences were found in condition factor (K index: 1.44–1.58), specific growth rate (SGR: 3.15 ± 0.09 to 3.26 ± 0.10 % BW/day), or feed efficiency ratio (FER: 0.71 ± 0.04 to 0.85 ± 0.10).

Table 4 Growth performance of amberjack fed the test diets

Diet	Survival (%)	Final BW (g)	Final Length (cm)	Final Biomass (gr)	K Index	SGR (% BW/day)	FER
Control	$90 \pm 4.33_b$	$133.14 \pm 6.3_a$	$20.32 \pm 0.15_b$	$4,786.6 \pm 107_b$	1.58 _a	$3.15 \pm 0.09_a$	$0.71 \pm 0.04_a$
S1	$90 \pm 0_b$	$140.71 \pm 9.03_a$	$20.72 \pm 0.13_{ab}$	$5,065.6 \pm 325_{ab}$	1.58 _a	$3.26 \pm 0.10_a$	$0.85 \pm 0.10_a$
S2	$98.33 \pm 0.14_a$	$135.77 \pm 2.07_a$	$21.09 \pm 0.13_a$	$5,385.4 \pm 102_a$	1.44 _a	$3.20 \pm 0.02_a$	$0.77 \pm 0.09_a$

Values are means (n = 3). Values with the same superscript letter within the same column are not significantly different (P > 0.05) ANOVA unidirectional; Tukey’s; P < 0.05).

Gain (%) = $100 \times (\text{final BW} - \text{initial BW}) / \text{initial BW}$
 SGR (specific growth rate, % BW/day) = $100 \times [\ln(\text{final BW}) - \ln(\text{initial BW})] / \text{days}$
 FER (feed efficiency ratio) = wet weight gain/dry feed intake
 FI (feed intake, % BW/day) = $100 \times \text{dry feed intake} / [\text{initial BW} + \text{final BW}] \times 0.5 \times \text{days}$
 Fulton index (K) = $\text{Weight} / (\text{Length}^3) \times 100$

Intestine morphology

Histological analysis revealed that dietary histidine supplementation had a marked effect on intestinal villus morphology (Table 5). Villus length differed significantly among treatments ($p < 0.05$), with the S1 group exhibiting the longest villi (1466.07 μm), whereas fish in the S2 group showed the shortest (632.5 μm). The control group presented intermediate villus length values (734.30 μm), which were not significantly different from those of S2 (Table 5).

Goblet cell coverage area did not differ significantly among treatments ($p > 0.05$; Table 5). However, mucin coverage area increased progressively with dietary histidine supplementation, being significantly higher in the S2 group compared to both the control and S1 groups ($p < 0.05$; Table 5). Histological sections corroborated these findings, showing more intense blue mucin staining in the intestinal epithelium of fish from the S2 group (Fig. 1C) relative to the control (Fig. 1A) and S1 (Fig. 1B) treatments.

Table 5 Morphological parameters of the anterior intestine in juvenile *Seriola rivoliana* supplemented with different dietary histidine levels.

Treatment	Villus height (μm)	Total intestinal wall thickness (μm)	Goblet cell area (μm^2)	Mucin coverage area (μm^2)
Control	712.78 $\pm$ 48.99 ^{ab}	196.03 $\pm$ 13.36 ^a	41,499 $\pm$ 6,194 ^a	14,947 $\pm$ 5,046 ^a
S1	864.61 $\pm$ 33.86 ^b	152.59 $\pm$ 4.32 ^b	42,746 $\pm$ 6,955 ^a	19,595 $\pm$ 4,497 ^a
S2	626.77 $\pm$ 28.50 ^a	146.55 $\pm$ 5.26 ^b	55,306 $\pm$ 4,712 ^a	44,296 $\pm$ 5,249 ^b
<i>p</i>	< 0.05	0.0059	> 0.05	< 0.05
<i>A</i>	0.05	0.05	0.05	0.05

Values are expressed as mean $\pm$ standard error. Different superscript letters within the same column indicate statistically significant differences among treatments according to Tukey's test ($\alpha = 0.05$).

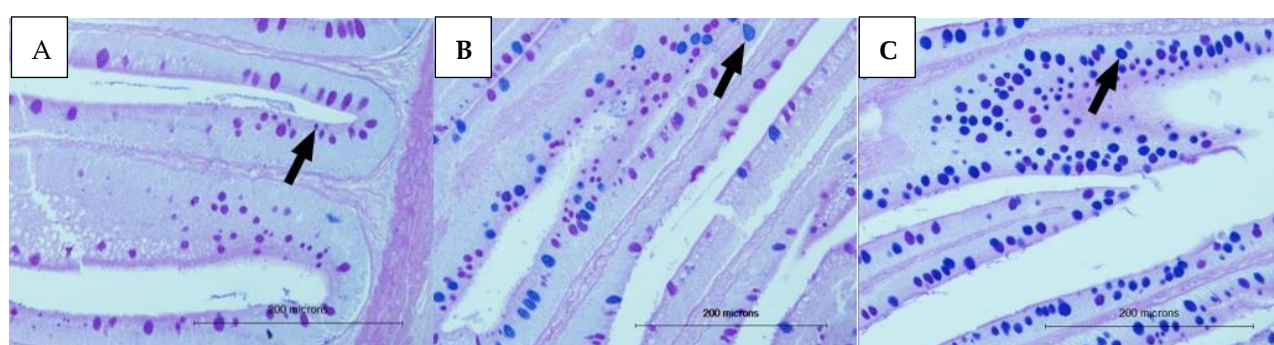


Figure 1 Progressive increase in mucin-covered area with rising histidine percentage: control (A), S1 (B), and largest area in S2 (C). Mucins stained blue indicated by arrows

Enzymatic activity

Catalase, glutathione peroxidase (GPx), and superoxide dismutase (SOD) activities were assessed across experimental groups to determine the impact of histidine supplementation on antioxidant enzyme function. The results revealed a statistically significant reduction in catalase activity in the S1 group, which received 1% histidine supplementation, when compared to both the control group and the S2 group ($p < 0.05$; Fig. 2). This reduction was consistent across biological

replicates and was reflected in visibly lower mean enzymatic activity values for S1, as evidenced by the distinct clustering of data points and the presence of non-overlapping errors.

In contrast, the S2 group, supplemented with 2% histidine, did not exhibit significant differences in catalase or GPx activity relative to the control. Statistical analysis confirmed that only the S1 group differed significantly from the control, as indicated by the assignment of distinct letters in the post hoc comparison. Regarding SOD activity, although no statistically significant differences were detected among the experimental groups, a slight downward trend was observed as histidine concentration increased. Mean SOD activity values were marginally lower in the S1 and S2 treatments compared to the control, and this pattern was consistent across replicates. However, the overlap of error bars and the uniform assignment of statistical groupings indicate that these differences did not reach the threshold for significance

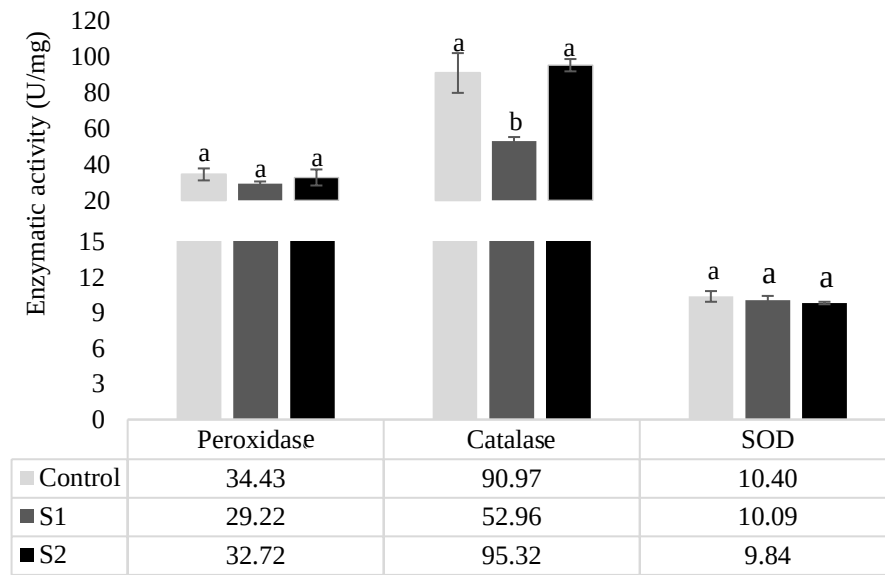
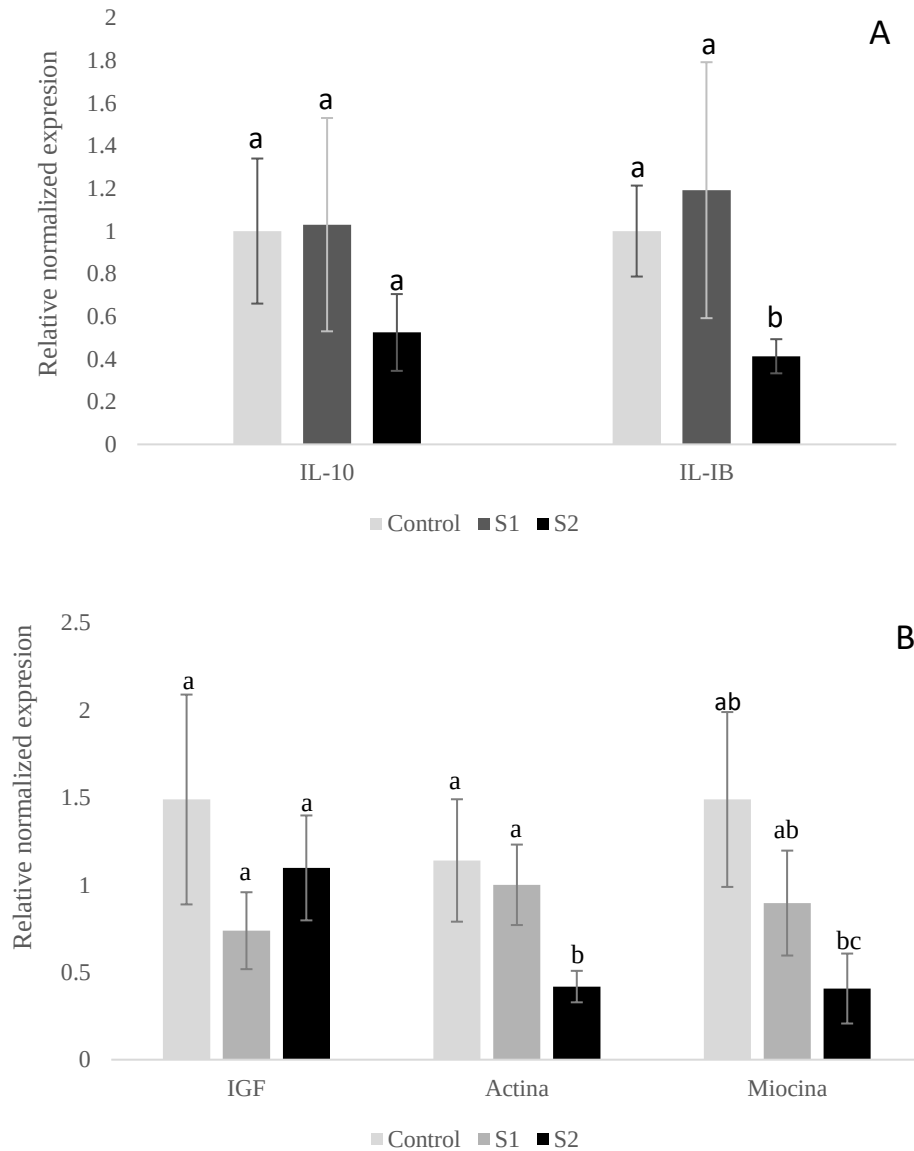


Figure 2 Enzymatic activity (U/mg) in response to treatments. Individual one-way ANOVA was performed for each enzyme ($P < 0.05$). Data are expressed as mean values. Vertical bars represent $\pm$ standard errors. Different lowercase letters indicate statistically significant differences among treatments.

Relative gene expression

The relative expression of *IL-10*, *IL-1B*, *IGF*, *Myosine*, and *Actine* genes was evaluated under three experimental conditions: a control group without histidine supplementation. The results showed a decrease in gene expression levels across all analyzed genes in the histidine-treated groups compared to the control. This suppression was consistent for *IL-10*, *IL-1B*, *Myosine*, and *Actine*, with relative expression values approaching zero in both S1 and S2 treatments. However, when assessing the statistical significance of these changes, only the expression of *Actine* showed a significant difference compared to the control group, with a p -value below 0.05. Although the other genes exhibited a downward trend in expression, they did not meet the established threshold for statistical significance and therefore cannot be considered differentially regulated under the tested conditions.



206

207

208

209

210

211

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

228

229

230

231

232

233

234

235

236

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

253

254

255

256

257

258

259

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

276

277

278

279

280

281

282

283

284

285

286

287

288

289

290

291

292

293

294

295

296

297

298

299

300

301

302

303

304

305

306

307

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

318

319

320

321

322

323

324

325

326

327

328

329

330

331

332

333

334

335

336

337

338

339

340

341

342

343

344

345

346

347

348

349

350

351

352

353

354

355

356

357

358

359

360

361

362

363

364

365

366

367

368

369

370

371

372

373

374

375

376

377

378

379

380

381

382

383

384

385

386

387

388

389

390

391

392

393

394

395

396

397

398

399

400

401

402

403

404

405

406

407

408

409

410

411

412

413

414

415

416

417

418

419

420

421

422

423

424

425

426

427

428

429

430

431

432

433

434

435

436

437

438

439

440

441

442

443

444

445

446

447

448

449

450

451

452

453

454

455

456

457

458

459

460

461

462

463

464

465

466

467

468

469

470

471

472

473

474

475

476

477

478

479

480

481

482

483

484

485

486

487

488

expression was significantly reduced in the S2 group compared to the control and S1 ($p < 0.05$; Fig. 3D), and *IL-10* expression was significantly lower in both histidine-supplemented groups relative to the control. Final length was positively correlated with dietary histidine percentage ($r = 0.9986$), biomass ($r = 0.9980$), and mucin coverage, and negatively correlated with expression of *myosin* ($r = -0.9973$), *actin* ($r = -0.9156$), *IL-10* ($r = -0.8545$), and SOD activity ($r = -0.9313$). Among development-related genes, only *actin* expression was significantly reduced in the S2 group compared to S1 and the control ($p < 0.05$), while no significant differences were observed for myosin or IGF. Biomass was strongly correlated with histidine percentage ($r = 1.0000$), SGR ($r = 0.9990$), and final length ($r = 0.9980$), and negatively correlated with *myosin* ($r = -0.9910$) and *actin* ($r = -0.9390$) expressions and SOD activity ($r = -0.9520$). Complementary analysis of the specific growth rate (SGR) revealed negative correlations with myosin ($r = -0.9890$) and *actin* ($r = -0.9431$) expressions. In contrast, SGR was positively correlated with final length ($r = 0.9971$). Finally, antioxidant enzyme activity (SOD, GPx and CAT) showed a strong inverse relationship with final body weight. Both catalase and GPx activities were negatively correlated with body weight ($r = -0.963$ and -0.959).

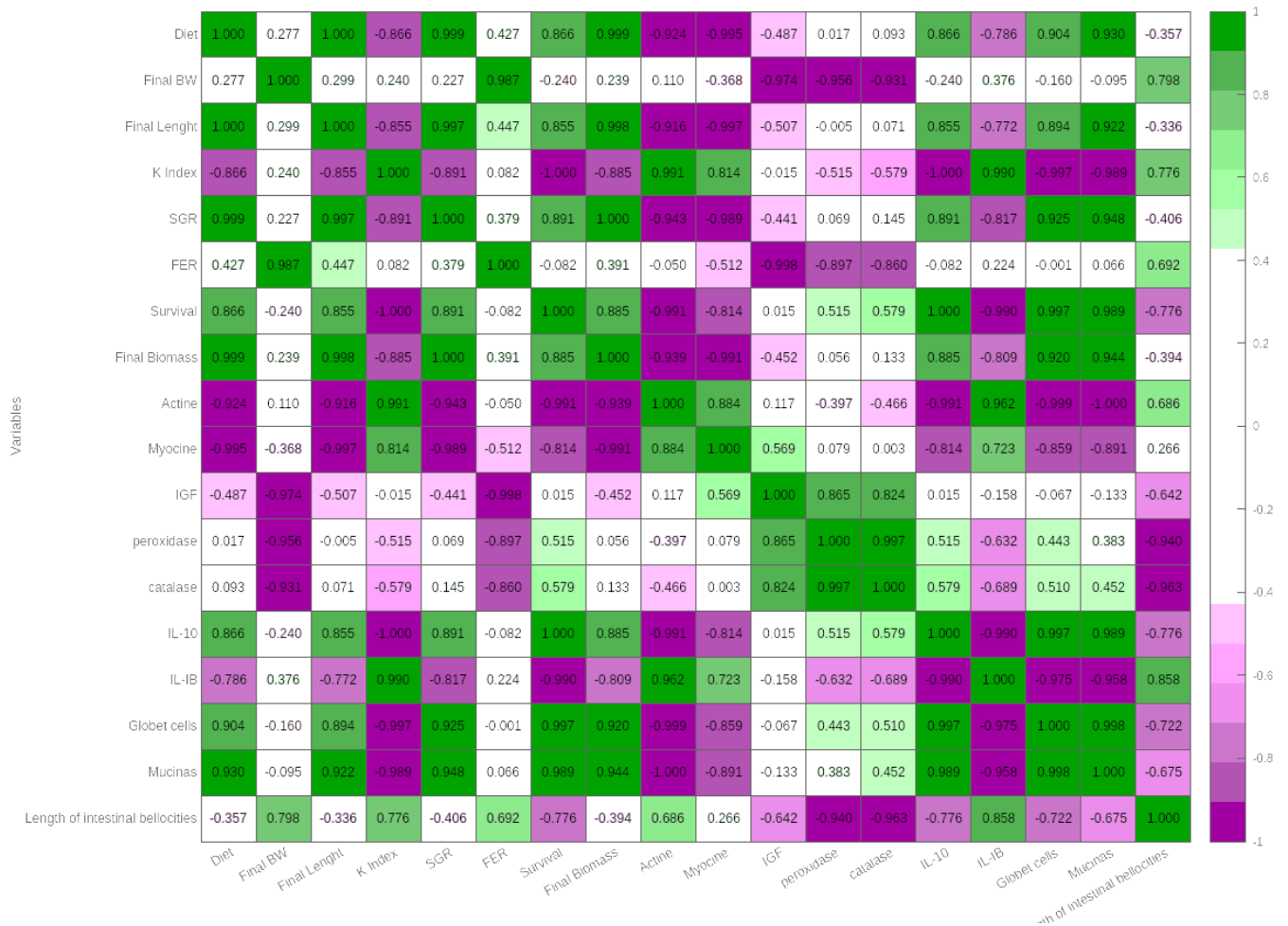


Figure 4 Heatmap of Pearson correlations among physiological, biochemical, and morphological variables.

The matrix displays pairwise correlation coefficients ranging from -1 to $+1$, highlighting relationships among growth performance, gene expression, antioxidant enzymatic activity and intestinal structure. Green tones represent positive correlations, purple tones indicate negative correlations, and white areas reflect weak or no correlation. Color intensity corresponds to the strength of the correlation. Only correlations with $p < 0.05$ were considered statistically significant.

DISCUSSION

234

235

236

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

253

254

255

256

257

258

259

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

273

In the present study, histidine supplementation did not lead to significant differences in final body weight when compared to the control group, even at supplemented levels (1.33–2.81% dry weight). This outcome mirrors a consistent trend reported in previous research on *Seriola* species. For instance, Ogata (2002) observed that the addition of 2.47% histidine to a commercial dry feed for *Seriola quinqueradiata* juveniles did not compromise growth. Likewise, Yamamoto (2019) found no detrimental effects on growth when testing histidine inclusion levels between 1.2% and 1.92% in *S. quinqueradiata* juveniles. More recently, Booth and Pirozzi (2022) extended these findings in *Seriola lalandi*, reporting that dietary histidine levels ranging from 0.75% to 2.42% over a seven-week trial did not significantly alter harvest weight. The absence of a growth response to histidine supplementation in *Seriola* contrasts with findings in other genera, such as *Sciaenops ocellatus*, *Catla catla*, and *Pseudosciaena crocea*, where these studies have reported significant increases in final body weight following histidine supplementation in lower concentrations (0.68, 0.7 and 0.98% dry weight, respectively) (Li et al., 2014; Peachey et al., 2018; Ravi and Devaraj, 1991; Zehra and Khan, 2016). This discrepancy may be attributed to species- or genus-specific differences in nutritional requirements. For instance, Ogata (2002) observed that juveniles of *Seriola quinqueradiata* exhibit significantly higher histidine concentrations in their dorsal white muscle compared to other species, irrespective of dietary treatments. This finding suggests that *Seriola* may naturally possess a higher basal level of histidine, potentially explaining the lack of a pronounced growth response to increased supplementation.

Based on a cross-study data analysis, Macías-Reyes et al. (2025) identified a correlation between histidine dependency and the ecological niche and metabolic intensity of various species. Active swimmers, in particular, require elevated histidine reserves to support muscle contraction and acid-base regulation. These observations are consistent with the findings of Suyama and Yoshizawa (1973) and Suzuki et al. (1987), who reported that migratory species tend to accumulate histidine and its derivatives—anserine and carnosine—as predominant non-protein nitrogen compounds, accounting for more than 50% of the total and more recent reports by Wang et al. (2021) and Moro et al. (2020), which documented the occurrence and distribution of histidine-containing dipeptides in teleost muscle tissues.

This plateau effect may reflect a physiological saturation point, beyond which excess histidine is either metabolized into non-growth-related compounds or excreted. Given the pelagic nature and high metabolic rate of *Seriola* species, their baseline histidine requirements are likely optimized for muscle function and nitrogen balance rather than linear growth enhancement. Therefore, while adequate histidine intake is essential, its over-supplementation does not appear to translate into measurable gains in somatic growth under standard rearing conditions.

Regarding growth performance metrics, no statistically significant differences were observed in Specific Growth Rate (SGR) or Feed Efficiency Ratio (FER) among treatments and the control group. This reflects similar growth trajectories among treatments. As was also observed in the studies of Yamamoto (2019) and Booth and Pirozzi (2022). Yamamoto reported no significant differences in SGR among *S. quinqueradiata* groups fed histidine-supplemented diets, with values ranging from 4.48 (control) to 4.68 (histidine treatment)—notably higher than those observed in our results (3.15 in the control and 3.26 in the S1 group). These discrepancies are explained by differences in feeding strategies: Yamamoto employed feeding to apparent satiation twice daily, whereas the current study utilized a fixed feeding rate of 5 biomass administered four times daily, which may have limited the expression of maximal growth potential. Although no significant differences were detected in this study, the highest numerical SGR values were observed near 2% histidine — specifically, 1.89% in Yamamoto et al (2019), 1.95% in Booth and Pirozzi (2022), and 2.03% in the present trial. - These

findings suggest that histidine levels around 2% may be sufficient to support normal growth in *Seriola* species, while higher levels do not yield further benefits in somatic development.

FER did show variations in Yamamoto et al. (2019) study, but such variations were not detected in our study. Since the final weights were similar in Yamamoto et al. (2019), these differences imply variations in the amount of consumed feed, resulting in differing feed efficiencies among the fish receiving histidine-supplemented diets versus control. The differences between the results of Yamamoto et al. (2019) and the present is attributed to the stringent feeding protocol employed, in which feed amounts were adjusted biweekly based on a quadratic growth model derived from biometric data, ensuring a consistent 5% ration relative to tank biomass.

Although no statistically significant differences were detected in our study in final weight, SGR, or FER, body length varied among treatments. Fish fed the S2 diet showed greater body length than those fed the S1 diet, although this difference was not statistically significant. However, S2 groups exhibited significantly greater body length compared to the control group, with the lowest values. These results suggest a positive trend in body length associated with increasing dietary histidine levels. To our knowledge, no previous studies have evaluated the final body length in *Seriola* species in response to dietary histidine inclusion, making this a novel contribution to the understanding of growth morphology in this genus.

Confirming that fish in the S2 treatment experienced greater elongation, some trends were observed even though no significant differences were detected in the Fulton index. Fish in the S2 group showed lower K values compared to those in the S1 group, indicating a reduced weight-to-length ratio. While the highest weights occurred in the S1 treatment, the greatest lengths were observed in the S2 group.

No difference in final weight was found among *S. quinqueradiata* and *A. regius* juveniles at the evaluated histidine concentrations (Yamamoto et al. 2019; Saavedra et al. 2020). In *A. regius*, researchers tested two histidine percentages, 0.3 and 3%. Compared to evaluations in other species presented in this review, this range is extensive, making it difficult to determine whether intermediate concentrations yield similar results or an increase in weight, as observed in other species.

Histological analyses revealed that histidine supplementation significantly influenced intestinal integrity in *S. rivoliana*. Although the goblet cell coverage area did not differ among treatments, the mucin-covered area increased notably in fish as the level of histidine increased, suggesting that histidine may modulate mucus synthesis or secretion rather than goblet cell proliferation.

The positive effects of histidine on intestinal morphology are consistent with previous studies in other fish species. For instance, Taj et al. (2022) reported that moderate histidine levels (8.6–10.7 g/kg) improved gut morphometric traits in hybrid groupers (*Epinephelus fuscoguttatus* × *E. lanceolatus*), while both lower and higher levels impaired intestinal structure. Similarly, in our study, villus length followed a bell-shaped response, with the S1 treatment (intermediate histidine) showing the longest villi, whereas excessive supplementation (S2) resulted in shorter villi. In that sense, this pattern indicates that histidine exerts a dose-dependent effect on intestinal morphology, where optimal levels promote epithelial growth, but excessive intake may disrupt structural integrity.

Our results revealed significant differences in intestinal mucosal characteristics between fish fed the highest histidine-supplemented diets and those in the other groups, with greater mucin coverage observed in the S2 treatment. Although the number of goblet cells did not differ significantly among treatments and the control group, the increased mucin coverage in S2 may indicate enhanced mucin production per goblet cell and/or increased secretory activity. In this regard, the increase in mucin production may be associated with the conversion of histidine to histamine, since histidine serves as the precursor of histamine through the action of histidine decarboxylase (HDC) (Brosnan & Brosnan, 2020), an enzyme

highly expressed in mast cells (Hirasawa, 2019) and enterochromaffin-like cells of the oxyntic mucosa of the stomach (Aures et al., 1968). Histamine has been associated with the stimulation of mucus secretion and modulation of epithelial and immune responses in the gastrointestinal tract (Galindo-Villegas et al., 2016), which may partially explain the greater mucin coverage observed in the S2 group.

Histidine metabolism, particularly its conversion to histamine and subsequent degradation by amino oxidases, can generate hydrogen peroxide (H_2O_2) (Brosnan & Brosnan, 2020, Moro et al., 2020, Álvarez & Moreno-Arribas, 2014), potentially influencing catalase (CAT) activity. Notably, in the present study, CAT activity increased in the high-histidine treatment (S2). This increase does not appear to be associated with H_2O_2 production derived from SOD-mediated dismutation of superoxide radicals, since SOD activity did not differ significantly among treatments. Therefore, the simultaneous observation of elevated mucin coverage and increased CAT activity in S2 may constitute indirect evidence of enhanced histidine conversion to histamine. This enzymatic response may reflect a protective mechanism to maintain redox balance.

Interestingly, CAT activity was also elevated in the control group, this may be due to the inflammation found in the foregut wall, since not only SOD activity is responsible for the generation of hydrogen peroxide, but also DUOX/NADPH oxidase enzymes in inflamed tissue have been associated with the production of reactive hydrogen species (ROS) (Wittmann et al., 2012)

In contrast, the intermediate histidine treatment (S1) exhibited significantly lower CAT activity. In this regard, mucins are known to limit copper-catalyzed ROS formation and oxidative propagation reactions through copper sequestration (Buettner and Jurkiewicz, 1996; Rubino and Franz, 2012; Reznik, 2022), thereby diminishing the need for catalase-mediated detoxification. Specifically, the D1 domain of MUC2 mucin contains a cluster of histidine and methionine residues capable of binding copper ions (Rubino and Franz, 2012; Reznik, 2022). In addition, exposure of mucus glycoproteins to hydrogen peroxide has been associated with a marked reduction in histidine residues, suggesting that histidine-rich regions may participate in oxidative buffering mechanisms (Creeth et al., 1983). This interaction stabilizes copper in its reduced form (Cu^+), preventing its participation in Fenton-like reactions that generate ROS (Buettner and Jurkiewicz, 1996; Reznik, 2022). This suggests that in S1, redox homeostasis may be maintained through mucin-mediated copper regulation rather than enzymatic compensation. Together, these findings highlight a dual antioxidant strategy in *Seriola rivoliana*, where histidine supports both enzymatic and structural defenses depending on its dietary concentration. The observed increase in catalase expression, in the absence of a corresponding induction of peroxidase activity, is indicative of a cellular response to elevated hydrogen peroxide (H_2O_2) levels rather than to tightly regulated redox signaling. Catalase functions as a high-capacity, low-affinity enzyme optimized for the rapid detoxification of H_2O_2 when intracellular concentrations rise, whereas peroxidases generally operate under low H_2O_2 conditions and depend on reducing equivalents such as glutathione. In scenarios involving sustained or localized H_2O_2 generation, including that potentially arising from enhanced histamine catabolism via diamine oxidase, peroxidase systems may become functionally constrained by substrate saturation or cofactor limitation. Consequently, the preferential engagement of catalase is consistent with an adaptive antioxidant response aimed at mitigating oxidative stress rather than modulating redox-dependent signaling pathways.

Histamine is known to act as a potent inflammatory mediator capable of modulating innate lymphoid cells (ILCs), particularly the type 2 innate lymphoid cells (*ILC2*), which mirrors the functions of T helper 2 cells (Morita et al., 2015, MacGlashan, 2003, Greaves & Sabroe, 1996). *ILC2*s respond to epithelial-derived cytokines such as *IL-25* and *IL-33* by regulating the secretion of *IL-5*, *IL-9* and *IL-13*, which stimulate goblet cells to overproduce mucus, thereby reinforcing the intestinal barrier (Licona-Limón et al., 2013). In parallel, histamine promotes the release of cytokines such as *IL-4* and *IL-13* from MCs, these cytokines stimulate goblet cells to enhance mucus secretion, reinforcing the intestinal barrier (Galindo-Villegas et al., 2016; St John and Abraham, 2013). Goblet cells are specialized epithelial cells responsible for

secreting the mucus hydrogel that lines the intestinal surface. This mucosal layer plays a multifaceted role: it protects against microbial invasion, facilitates mast cell degranulation near parasite attachment sites, influences microbiota distribution, and maintains tissue homeostasis by regulating the diffusion of nutrients and oxygen (Dezfuli et al., 2015; Jevtov et al., 2014; Kim & Khan, 2013).

Our findings indicate that the increased mucin abundance observed in the S2 group may be driven by histamine-mediated activation of both epithelial and immune signaling pathways. Given that dietary histidine is a precursor of histamine, this supports a dual mechanism—direct and indirect—by which histidine intake promotes mucin synthesis in the intestine. Histamine’s role in mucin regulation has also been documented in mammalian systems. During *Nippostrongylus brasiliensis* infections, for instance, parasite expulsion is linked to mast-cell-driven mucus hypersecretion (Levy and Frondoza, 1983), granules packed with inflammatory mediators such as heparin, proteases, TNF, histamine and other products like histamine (Kunder et al. 2009). In this context, our findings in fish align with a conserved mechanism where histidine-derived histamine enhances mucosal defense through increased mucin synthesis.

Although several studies have shown that high doses of dietary histamine can impair intestinal antioxidant capacity—as reported by Liu et al. (2021) in striped catfish, grouper (Liu et al. 2021), American eel (Ma et al., 2020) and Pacific white shrimp (Lin et al., 2022)—our findings suggest a different response in *Seriola rivoliana*. In our study, the diet with the highest histidine level (2.810%) resulted in significant catalase (CAT) activity, indicating that despite the potential conversion of histidine to histamine, the antioxidant system remained functional and epithelial damage did not occur. This enzymatic activity suggests that endogenously generated histamine may modulate the antioxidant response adaptively rather than toxically. Therefore, we propose that the effect of histamine on intestinal epithelium is dose-dependent, species-specific, and influenced by its origin (exogenous vs. endogenous), with *Seriola* capable of maintaining epithelial integrity under high histidine availability.

Beyond mucus regulation, our cytokine data indicate that histidine supplementation influences the immune milieu. The negative correlation between mucins with *IL-10* and *IL-1β*, suggesting modulation of intestinal immune signaling. Histamine released by mast cells can downregulate pro-inflammatory cytokines and enhance *IL-10* expression (Galindo-Villegas et al., 2016; Mulero et al., 2007; Vo and Kim, 2013), supporting this interpretation. Together, these findings indicate that histidine acts as an immunomodulatory amino acid, balancing mucus-mediated protection and controlled inflammation to maintain intestinal homeostasis (Babe & Serafin, 2000).

The observed increase in mucin production and goblet cell abundance may have contributed to the higher survival rates observed in histidine-fed groups. By strengthening the mucosal barrier, fish likely gained improved resistance against opportunistic pathogens, reducing mortality risks. To the best of our knowledge, no studies have reported an increase in intestinal mucins in fish through dietary histidine supplementation. However, evidence from mammalian systems suggests that histidine may play a protective role in the intestinal mucosa. For instance, Son et al. (2005) demonstrated that histidine could inhibit inflammation induced by oxidative stress in human intestinal epithelial cells, highlighting its potential as an immunomodulatory amino acid. This finding, although derived from human cell culture models, supports the notion that histidine may contribute to intestinal homeostasis not only through its role in mucin production but also by attenuating inflammatory responses. Histamine has been shown to stimulate the release of cytokines, chemokines, and adhesion molecules by inflammatory cells, epithelium, and endothelium (Vo and Kim, 2013; Yamauchi et al., 2007).

Taken together, these results demonstrate that histidine supplementation promotes intestinal health by improving epithelial barrier integrity and modulating immune responses. The correlations observed between mucins and cytokines (*IL-10* and *IL-1β*) support the view that histidine contributes to an anti-inflammatory intestinal environment. This dual role—enhancing nutrient absorption and reducing pathogen susceptibility—may partly explain the improved performance and survival observed in histidine-fed *S. rivoliana*.

These results indicate that histidine modulates intestinal structure by influencing villus growth and mucin secretion, potentially reflecting an adaptive response of the intestinal mucosa to varying dietary histidine levels.

The evaluation of growth-related gene expression provided further insights into the mechanisms by which histidine supplementation influences *S. rivoliana* performance. In particular, the expression of insulin-like growth factor (*IGF*), *actin*, and myosin revealed complex patterns of association with growth parameters.

As has been observed in juvenile hybrid grouper *Epinephelus fuscoguttatus* /*Epinephelus lanceolatus* *IGF* has been correlated with the final weight. In this study the histidine had a significant increase on the relative expression level of *IGF*-1 mRNA and correlated with the final weight (Taj et al., 2022). Unlike Taj et al. (2022), in our results, histidine inclusion did not show significant differences between treatments in both the expression of *IGF* and the final weight. The *IGF* did not show a straightforward relationship with both, final weight and length.

The histidine supplementation has been shown to increase final weight in species with lower metabolic intensity, such as hybrid grouper *Epinephelus fuscoguttatus* /*Epinephelus lanceolatus*. In contrast, highly active pelagic species such as *Seriola rivoliana*, *Seriola lalandi*, *Seriola dumerili*, *Auxis thazard*, *Katsuwonus pelamis*, *Thunnus albacares*, *Thunnus alalunga*, *Sarda sarda*, *Scomberomorus munroi*, *Scomber scombrus* may use histidine primarily for muscle buffering via histidine-containing dipeptides such as carnosine, and metabolic regulation (Macias-Reyes et al., 2025) rather than somatic growth, which is driven by the expression of *IGFI* and *IGFII* (Castillo et al., 2004; Codina et al., 2004).

More unexpectedly, strong negative correlations were detected between final length and the expression of genes that encode structural proteins in somatic muscles of teleost fish, such as *actin* ($r = -0.9156$) and myosin ($r = -0.9973$). In turn, *actin* had a correlation of 0.991 with the K-index, that is, as the expression of the gene decreased, a decrease in the K-index was also observed. The lower K-index indicates lower body mass in relation to its length, that is, as the percentage of histidine increased, organisms with lower muscle mass were found to coincide with the lower expression of *actin*.

This phenomenon has been interpreted as a shift from transcriptional upregulation to post-transcriptional and translational regulation, ensuring efficient protein synthesis without requiring sustained high mRNA levels. In this sense, the negative correlations observed in our study may reflect a more efficient use of existing transcripts during histidine-supported growth.

The molecular results therefore suggest that histidine supplementation may influence muscle regulatory pathways, although no significant improvements in growth performance were observed. This interpretation aligns with the improved feed efficiency ratios (FER) observed in the supplemented groups. It also highlights that molecular growth regulation can involve downregulation of certain transcripts while still supporting robust somatic development.

Overall, these findings indicate that dietary histidine modulates molecular pathways associated with muscle physiology, where final length and biomass differences may be associated with regulatory adjustments in gene expression.

The correlation analysis provided an integrative view of how histidine supplementation affects different biological dimensions in *S. rivoliana*. Final length emerged as a central trait, showing strong positive correlations with histidine dietary percentage ($r = 0.9986$), biomass ($r = 0.9980$), and mucin abundance ($r = 0.9217$). These associations suggest that histidine simultaneously supports somatic body length and mucosal development, establishing a link between nutrient availability, intestinal function, and whole-body performance.

A strong positive correlation was observed between the final body length and mucin coverage area ($r = 0.921$). Specifically, greater mucin coverage was associated with increased fish length. Mucins have been implicated in the regulation of tissue mineralization, including nacre formation in mollusks (Marin et al., 2000), calcification in echinoderms, and bone formation in vertebrates (Midura, 1996) although this mechanism was not directly evaluated in the present study.

It has been proposed that epithelial mucus secretion plays an important role in maintaining metal solubility in fish. This is because mucus forms metal–mucus chelates that help retain metals in solution within the intestinal tract, thereby may

enhance their availability for absorption. This process plays a key role in facilitating the availability of essential minerals required for skeletal development (Bury et al., 2003; Glover and Hogstrand, 2003). Supporting this hypothesis, Teles (2022) reported that *Seriola rivoliana* larvae fed live preys enriched with *Debaryomyces hansenii* exhibited increased mucin production in the digestive tract, along with upregulation of the *muc-2* gene. This increase in mucin secretion was not only linked to enhanced larval length but also to improved skeletal mineralization and a reduction in skeletal deformities. These findings reinforce the proposed relationship between mucins and mineralization processes, suggesting that elevated mucin production enhance mineral bioavailability, thereby potentially influencing bone development and longitudinal growth.

Regarding mineral availability in fish, zinc has been identified as a critical element for growth and overall health. Deficiency of this mineral has been associated with extremely low growth rates, high mortality, impaired protein digestibility, and the development of specific pathologies. According to Lall and Kaushik (2021), common signs of mineral deficiencies in fish include reduced bone mineralization, anorexia, cataracts (linked to zinc deficiency), skeletal deformities (associated with phosphorus, magnesium, and zinc deficiencies), and fin erosion (commonly related to copper and zinc imbalances)(Lall and Kaushik, 2021; Rhodes et al., 2010). Classic studies by Ogino and Guang-Yang (1978) in *Oncorhynchus mykiss* (rainbow trout) confirmed these observations, showing that fish fed diets with very low zinc content (1 ppm) exhibited extremely low growth rates, high mortality, cataracts, and fin and skin erosion. Moreover, zinc deficiency was shown to reduce the digestibility of both protein and carbohydrate, with protein being more severely affected (Ogino and Guang-Yang, 1978). Similar effects have been reported in other species, such as *Ctenopharyngodon idella* (grass carp) and *Sparus aurata* (gilthead seabream), where low zinc availability negatively influenced growth, mineral deposition, and resistance to oxidative stress (Dominguez et al. 2019; Faiz et al., 2015). Collectively, these findings underscore the fundamental role of zinc in maintaining normal growth, skeletal integrity, and health in fish. On the contrary, Tan et al (2011) concluded that diet with zinc could promote growth and increase nutrient deposition and intestinal enzyme activities.

Although zinc can be absorbed through both the gills and the gastrointestinal tract, but previous studies have established that the gastrointestinal tract is the primary route of absorption in both freshwater and marine environments (Spry et al. 1988, Lall and Kaushik, 2021). The composition of the intestinal lumen is likely to have considerable influence upon the absorption (Glover and Hogstrand, 2002). Glover and Hogstrand (2002) concluded that alterations in zinc transport were not correlated with changes in levels of free zinc ion. Rather, the chemical nature of the zinc–amino acid chelates appeared to exert the most important influence on zinc absorption. In this context, L-histidine, despite its strong zinc-chelating effect, maintained zinc uptake at levels comparable to those observed with zinc alone, an effect correlated with the formation of $Zn(His)_2$ species. In contrast, D-histidine at a luminal concentration of 100 mmol l^{-1} significantly enhanced subepithelial zinc accumulation but simultaneously reduced the fraction of zinc ultimately retained and absorbed by the fish. These findings led the authors to discuss the potential existence of a $Zn(His)_2$ -mediated pathway for intestinal zinc uptake.

A key study by Lönnnerdal (2000) demonstrated that zinc absorption is significantly impaired when iron is co-administered at a high molar ratio (25:1), a condition commonly encountered in fortified supplements. Interestingly, when histidine was included in the formulation, this inhibitory effect was no longer observed, even under the same iron:zinc ratio. These findings highlight the modulatory role of histidine in mineral bioavailability. Rather than acting solely as a chelating agent, histidine appears to facilitate zinc absorption by forming soluble complexes that remain available for

uptake in the presence of competing ions such as iron. This mechanism has positioned histidine as a valuable additive in supplement formulations, particularly in contexts where iron-induced interference with zinc uptake is a concern.

In this regard, Djellarta (2021), by supplementing histidine in larvae of *Seriola dumerili*, reported results consistent with those of Teles (2022), an improvement in larval development and a lower incidence of skeletal deformities were observed.

Further, studies have shown that cryo-electron microscopy on human mucins revealed that the amino-terminal region of intestinal mucin contains a distinctive clustering of histidine and methionine residues within the von Willebrand factor type D domain. In metal-binding assays using microscale thermophoresis (MST), a clear preference for Cu^{2+} was observed, with Zn^{2+} acting as a weaker competitor (Reznik, 2022). These findings demonstrate that histidine residues within mucins play a crucial role in zinc bioavailability by facilitating its absorption and utilization in the organism. This conclusion is further reinforced by the analysis of human mucin paralogs, which identified histidine residues in other gel-forming mucins such as MUC5AC and MUC5B, where three histidine residues acted as ligands for copper and zinc ions (Reznik, 2022). Altogether, these observations confirm that both free histidine and its incorporation into structural glycoproteins like mucins significantly influence zinc absorption and utilization in fish and other organisms.

Conversely, final length displayed negative correlations with myosin ($r = -0.9973$), *actin* ($r = -0.9156$), superoxide dismutase (SOD; $r = -0.9313$), and *IL-10* ($r = -0.8545$). These findings reinforce the idea that histidine-enhanced growth is accompanied by downregulation of certain molecular and oxidative stress markers, consistent with a shift toward more efficient cellular regulation rather than increased transcriptional activity or heightened oxidative defense.

According to reports, optimal dietary histidine reduced inflammatory responses in tissues, such as the intestine (Yang et al, 2019), and gills (Jiang et al. 2016) by downregulating *TNF- α* gene expression. These findings highlighted that adequate dietary histidine can reduce the inflammatory response of the liver through the downregulation of mRNA expression of proinflammatory cytokines in hybrid grouper. The precise mechanism through which dietary histidine can influence cytokine expression in fish remains unidentified, and these topics are worthy of further investigation.

Survival outcomes were also closely associated with intestinal integrity. Survival rate showed a strong positive correlation with goblet cell abundance ($r = 0.9967$), which itself correlated positively with mucins ($r = 0.9978$). In turn, mucins exhibited negative correlations with SOD, *IL-10*, *actin*, and the condition factor K index. This network indicates that mucosal integrity may contribute to resilience and survival, integrating histidine's impact across growth, immunity, and physiology.

These results suggest that histidine may contribute to maintaining intestinal immune homeostasis. The concurrent increase in mucin production with higher histidine levels further supports the idea that the intestine is structurally reinforced, contributing to enhanced intestinal health and host protection. The availability of minerals such as zinc can promote the abundance of mucins as observed Zahra et al. (2024) whereby the zinc supplementation, the fish intestinal immunity was improved in a dose-dependent manner, in terms of improved morphometry and a higher count of acid mucin producing goblet cells.

In our study, both *IL-10* and *IL-1 β* expression was negatively correlated with survival rates, further supporting the idea that suppression of these genes favors a more stable and healthier intestinal environment. As was observed in *Dicentrarchus labrax*, where the administration of a *Lactobacillus delbrueckii* strain resulted in the down regulation of both *IL-1 β* and *IL-10* expression. The treated group exhibited significantly lower transcription levels of *IL-1 β* , along with a trend towards reduced expression of *IL-10*, *COX-2*, and *TGF- β* , indicating modulation of the gut immune response and suppression of key pro-inflammatory signaling pathways (Picchietti et al., 2009).

Histidine's anti-inflammatory effects have been attributed to its antioxidant properties and its ability to modulate key signaling pathways. Son et al. (2005) demonstrated that histidine significantly inhibits *IL-8* secretion in intestinal epithelial cells exposed to oxidative stress, through the suppression of *TNF- α -induced NF- κ B* activation. This inhibition

was dose-dependent, with suppression rates exceeding 78% at concentrations of 25 mM in Caco-2 cells, and a similar effect observed in HT-29 cells. While our experimental histidine concentrations (131 mM and 180 mM in S1 and S2, respectively) differ from those reported by Son et al. (2005), the discrepancy may be due to the *in vivo* nature of our study in fish compared to the *in vitro* conditions in human cells used in previous research. Although *IL-8* was not directly analyzed in our study, it is known that *IL-8* expression can be upregulated in response to the cytokine *IL-1β* (Yamamoto et al, 2003). Notably, we did evaluate *IL-1β* levels and observed a progressive decrease in its expression with increasing histidine supplementation, suggesting a potential downstream attenuation of *IL-8* signaling. Additionally, Peterson et al (1998, 2001) demonstrated that L-histidine protects the intestine from damage induced by *Salmonella typhimurium* and cholera toxin. These effects were linked to histidine's ability to reduce reactive oxygen species (ROS) formation and inhibit PGE2 activity—both critical in inflammatory processes. Although Peterson's work did not directly assess cytokine expression, their findings reinforce the antioxidant and protective role of histidine in intestinal health.

Taken together, our results and previous research highlight histidine as a promising compound for modulating intestinal inflammation. Histidine can regulate gene expression, reduce oxidative stress, and enhance mucin production. This is partly explained by its chemical nature as a basic amino acid with high affinity for metals, which allows it to influence the regulation of trace ions such as Zn^{2+} and Cu^{2+} . These ions are closely linked to the synthesis of glycoproteins, including mucins. Altogether, these mechanisms may improve immune function, increase survival rates, and ultimately enhance final biomass. Therefore, histidine emerges as a potential functional dietary supplement to promote gut health and prevent inflammation-related pathologies.

CONCLUSIONS

The results of this study demonstrate that dietary histidine supplementation significantly influences intestinal integrity and immune responses in *Seriola rivoliana*. Notably, the highest histidine level (S2) promoted increased mucin production and greater mucosal coverage, strengthening the epithelial barrier even though goblet cell abundance did not differ among treatments. These findings suggest that histidine modulates mucosal function primarily through biochemical pathways—likely via histamine synthesis—rather than through changes in goblet cell numbers.

Evidence gathered in this study supports the idea that the enhanced mucosal capacity is partly explained by the immunomodulatory role of histamine. Activation of mast cells and type 2 innate lymphoid cells, together with the release of cytokines known to stimulate mucin secretion, offers a plausible mechanism linking histidine supplementation to the improved epithelial protection observed. Furthermore, the positive correlations between mucins and *IL-10*, along with the negative association with *IL-1β*, reinforce the notion that histidine promotes an anti-inflammatory intestinal environment supportive of homeostasis.

Although excessive histamine levels have been associated with reduced antioxidant capacity in other species, our findings indicate that, within the levels tested, histidine supplementation does not compromise intestinal integrity in *S. rivoliana*. Instead, the increased mucin production observed here may even contribute additional protection against oxidative stress, given the ability of mucins to stabilize metal ions such as copper and limit ROS formation.

Overall, these results indicate that dietary histidine plays a dual role by strengthening the epithelial barrier and modulating immune function in the intestine. This improved protection may help explain the higher survival rates recorded in histidine-fed groups, likely due to increased resistance against opportunistic pathogens. Future research should further

explore the systemic effects of histidine supplementation by evaluating the expression of genes related to skeletal growth (e.g., collagen and bone signaling factors), assessing hepatic levels of growth-regulating hormones such as *IGF-1* and GH, and analyzing the expression of genes involved in mucin production (e.g., *MUC2*) and intestinal nutrient transport, including zinc and calcium transporters. Together, these approaches would provide deeper insight into the broader physiological roles of histidine and its contribution to growth performance, intestinal functionality, and overall resilience under challenging environmental conditions.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors acknowledge the Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT, Mexico) for financial support and the doctoral grant (registration number 836461). The authors also thank the following technicians and colleagues for sharing their valuable knowledge in marine fish aquaculture: Francisco Encarnación Ramírez, Roxana Bertha Inohuye Rivera, Juan Carlos Pérez Urbiola, Pablo Monsalvo Spencer, and Carlos Ernesto Ceseña, for sharing their valuable knowledge in marine fish aquaculture.

Data availability statement

The authors can provide the data supporting the tables and graphics of this study upon request.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

The Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT, México) has provided partial funding for this research under the grant number CONAHCYT PRONACE Soberanía Alimentaria 321279 FOP07, so as the Kampachi Farms Mexico project N°20464.

REFERENCES

- Alvarez MA, Moreno-Arribas MV (2014) The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic microorganisms as a solution. *Trends Food Sci Technol* 39:146–155. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.07.007>
- Asencio-Alcudia G (2021) Efecto del uso de aditivos alimentarios funcionales en peces de importancia comercial (*Seriola rivoliana*, *Argyrosomus regius*, *Atractosteus tropicus*). Dissertation, CIBNOR.
- Benitez A (2018) Valor nutricional de subproductos de origen marino en alimentos para juveniles de jurel *Seriola rivoliana* (Valenciennes, 1833). Dissertation, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Departamento de Acuicultura, La Paz.
- Berenbrink M (2006) Evolution of vertebrate haemoglobins: Histidine side chains, specific buffer value and Bohr effect. *Respir Physiol Neurobiol* 154:165–184. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2006.02.011>
- Booth MA, Pirozzi I (2022) The digestible histidine requirement of juvenile yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. *Aquaculture* 548:737543. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737543>
- Brosnan, M.E. y Brosnan, J.T. (2020). Histidine metabolism and function. *Journal of Nutrition*, 150: 2570S–2575S. doi: 10.1093/jn/nxaa079.
- Buettner, G.R. y Jurkiewicz, B.A. (1996). Catalytic metals, ascorbate and free radicals: combinations to avoid. *Radiation Research*, 145: 532–541. doi: 10.2307/3579271.

- Bury, N.R., Walker, P.A. y Glover, C.N. (2003). Nutritive metal uptake in teleost fish. *Journal of Experimental Biology*, 206: 11–23. doi: 10.1242/jeb.00068.
- Castillo, J., Codina, M., Martínez, M.L., Navarro, I. y Gutiérrez, J. (2004). Metabolic and mitogenic effects of IGF-I and insulin on muscle cells of rainbow trout. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 286: R935–R941. doi: 10.1152/ajpregu.00486.2003.
- Codina, M., Castillo, J. y Gutiérrez, J. (2004). Role of IGF-II in the metabolism and proliferation of rainbow trout muscle cells. En: *5th International Symposium on Fish Endocrinology* (abstract).
- Dezfuli, B.S., Manera, M., Giari, L., DePasquale, J.A. y Bosi, G. (2015). Occurrence of immune cells in the intestinal wall of *Squalius cephalus* infected with *Pomphorhynchus laevis*. *Fish & Shellfish Immunology*, 47: 556–564. doi: 10.1016/j.fsi.2015.09.043.
- Djellarta, A. (2021). Advances in greater amberjack (*Seriola dumerili*, Risso, 1810) larval husbandry: nutrition, rearing systems and weaning protocols. Tesis Doctoral. University of Las Palmas de Gran Canaria, Department of Aquaculture, Las Palmas de Gran Canaria.
- Domínguez, D., Robaina, L., Zamorano, M.J. y Karalazos, V. (2019). Effects of zinc and manganese sources on gilthead seabream (*Sparus aurata*) fingerlings. *Aquaculture*, 505: 386–392. doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.03.004.
- Dörner, J. (2018). Evaluación de patrones de expresión génica en respuesta a distintas concentraciones de DHA en tejido hepático y mandibular de *Seriola lalandi* *in vitro*. Tesis Doctoral, pp. 1–131. Disponible en: <http://repositorio.conicyt.cl/bitstream/handle/10533/229441/Tesis.pdf?sequence=1> [consulta: fecha de acceso].
- Faiz, H., Zuberi, A., Nazir, S., Rauf, M. y Younus, N. (2015). Zinc oxide, zinc sulfate and zinc oxide nanoparticles as source of dietary zinc: comparative effects on growth and hematological indices of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *International Journal of Agriculture & Biology*, 17: 568–574. doi: 10.17957/IJAB/17.3.14.446.
- Galindo-Villegas, J., Garcia-Garcia, E. y Mulero, V. (2016). Role of histamine in the regulation of intestinal immunity in fish. *Developmental and Comparative Immunology*, 64: 178–186. doi: 10.1016/j.dci.2016.02.013.
- Glover, C.N. y Hogstrand, C. (2002). Amino acid modulation of *in vivo* intestinal zinc absorption in freshwater rainbow trout. *Journal of Experimental Biology*, 205: 151–158.
- Glover, C.N. y Hogstrand, C. (2003). Effects of dissolved metals and other hydrominerals on *in vivo* intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, 62: 281–293. doi: 10.1016/S0166-445X(02)00101-0.
- Greaves, M.W. y Sabroe, R.A. (1996). Histamine: the quintessential mediator. *Journal of Dermatology*, 23: 735–740.
- Gul, A.S., Tran, K.K. y Jones, C.E. (2018). Neurokinin B and serum albumin limit copper binding to mammalian gonadotropin releasing hormone. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 497: 1–6. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.02.001.
- Harris, P.J., Wyanski, D.M., White, D.B., Mikell, P.P. y Eyo, P.B. (2007). Age, growth, and reproduction of greater amberjack off the southeastern U.S. Atlantic Coast. *Transactions of the American Fisheries Society*, 136: 1534–1545. doi: 10.1577/T06-113.1.
- Hernández-de Dios, M., Spanopoulos-Zarco, M., Tovar-Ramírez, D., Maldonado-García, D., Maldonado-García, M., Galaviz-Espinoza, M. y Barreto-Curiel, F. (2024). Taurine improves juvenile *Seriola rivoliana* growth performance and biochemical profiles in blood serum and skeletal muscle. *Aquaculture Research*, 52: 443–458.
- Jevtov, I., Samuelsson, T., Yao, G., Amsterdam, A. y Ribbeck, K. (2014). Zebrafish as a model to study live mucus physiology. *Scientific Reports*, 4: 6653. doi: 10.1038/srep06653.
- Jiang, W., Feng, L., Qu, B., Wu, P. y Kuang, S. (2016). Changes in integrity of the gill during histidine deficiency or excess due to depression of cellular anti-oxidative ability, induction of apoptosis, inflammation and impairment of

- cell-cell tight junctions related to Nrf2, TOR. *Fish & Shellfish Immunology*, 56: 111–122. doi: 10.1016/j.fsi.2016.07.002.
- Kang-Lee, Y.A. y Harper, A.E. (1979). Effect of induction of histidase on histidine metabolism *in vivo*. *Journal of Nutrition*, 109: 291–299.
- Khan, M.A. y Abidi, S.F. (2009). Optimum histidine requirement of fry African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). *Aquaculture Research*, 40: 1000–1010. doi: 10.1111/j.1365-2109.2009.02180.x.
- Kim, J.J. y Khan, W.I. (2013). Goblet cells and mucins: role in innate defense enteric infections. *Pathogens*, 2: 55–70. doi: 10.3390/pathogens2010055.
- Klein, R.G. y Halver, J.E. (1970). Nutrition of salmonid fishes: Arginine and histidine requirements of Chinook and coho salmon. *Journal of Nutrition*, 100: 1105–1109. doi: 10.1093/jn/100.9.1105.
- Lall, S.P. y Kaushik, S.J. (2021). Nutrition and metabolism of minerals in fish. *Animals*, 11: 92711. doi: 10.3390/ani11092711.
- Levy, D. y Frondoza, C. (1983). Immunity to intestinal parasites: role of mast cells and goblet cells. *Federation Proceedings*, 42: 1750–1755.
- Li, Y., Cheng, Z., Mai, K., Ai, Q. y Shi, J. (2014). Dietary histidine requirement for juvenile large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. *Israeli Journal of Aquaculture*. doi: 10.5555/20153048860.
- Licona-Limón, P., Kim, L.K., Palm, N.W. y Flavell, R.A. (2013). TH2, allergy and group 2 innate lymphoid cells. *Nature Immunology*, 14: 536–542. doi: 10.1038/ni.2617.
- Lin, C., Yan, P., Lou, Z., Shi, X., Zhao, Q. y Li, E. (2022). Effects of histamine on the neuroendocrine-immune regulatory network in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 554: 738156. doi: 10.1016/j.aquaculture.2022.738156.
- Liu, Z.Y., Yang, H.L., Hu, L.H., Yang, W., Ai, C.X. y Sun, Y.Z. (2021). Dose-dependent effects of histamine on growth, immunity and intestinal health in juvenile grouper (*Epinephelus coioides*). *Frontiers in Marine Science*, 8: 685720. doi: 10.3389/fmars.2021.685720.
- Liu, Y., Fu, X., Huang, H., Fan, J., Zhou, H., Deng, J. y Tan, B. (2022). High dietary histamine induces digestive tract oxidative damage in juvenile striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Antioxidants*, 11: 2276. doi: 10.3390/antiox11112276.
- Lönnerdal, B. (2000). Zinc and health: current status and future directions dietary factors influencing zinc absorption. *Journal of Nutrition*, 130: 1378–1383. doi: 10.1093/jn/130.5.1341S.
- Ma, D., Cai, P., Zhai, S. y Cheng, X. (2020). Effect of dietary histamine on growth performance, digestive enzyme activities and antioxidant indices in intestine of juvenile American eels (*Anguilla rostrata*). *Feed Research*, pp. 42–45.
- MacGlashan, D. (2003). Histamine: a mediator of inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 112: S53–S59.
- Macías-Reyes, L.Y., Maldonado-García, M.C., Spanopoulos-Zarco, M. et al. (2025). Histidine as a key nutrient for enhancing reproductive performance and larval survival in marine fish: a mechanistic review. *Aquaculture International*, 33: 527. doi: 10.1007/s10499-025-02185-4.
- Marin, F., Corstjens, P., De Gaulejac, B., De Vrind-De Jong, E. y Westbroek, P. (2000). Mucins and molluscan calcification: Molecular characterization of mucoperlin, a novel mucin-like protein from the nacreous shell layer of the fan mussel *Pinna nobilis* (Bivalvia, Pteriomorpha). *Journal of Biological Chemistry*, 275: 20667–20675. doi: 10.1074/jbc.M003006200.

- Mesa-Rodríguez, A., Hernández-Cruz, C.M., Betancor, M.B., Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M.S. y Roo, J. (2016). Bone development of the skull, pectoral and pelvic fins in *Seriola rivoliana* (Valenciennes, 1833) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 42: 1777–1789. doi: 10.1007/s10695-016-0240-0.
- Midura, R.J. y Hascall, V.C. (1996). Bone sialoprotein—a mucin in disguise? *Glycobiology*, 6: 677–681. doi: 10.1093/glycob/6.7.677.
- Mulero, I., Sepulcre, M.P., Meseguer, J., García-Ayala, A. y Mulero, V. (2007). Histamine is stored in mast cells of most evolutionarily advanced fish and regulates the fish inflammatory response. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 104: 19434–19439. doi: 10.1073/pnas.0704537104.
- Monge-Ortiz, R., Tomás-Vidal, A., Rodríguez-Barreto, D., Martínez-Llorens, S., Pérez, J., Jover-Cerdá, M. y Lorenzo, A. (2018). Replacement of fish oil with vegetable oil blends in feeds for greater amberjack (*Seriola dumerili*) juveniles: Effect on growth performance, feed efficiency, tissue fatty acid composition and flesh nutritional value. *Aquaculture Nutrition*, 24: 605–615. doi: 10.1111/anu.12594.
- Morita, H., Sugita, K., Ferstl, R., Frei, R., Kubo, T., Van De Veen, W., Wawrzyniak, M., Wirz, O., Rückert, B., O'Mahony, L., Akdis, M. y Akdis, C. (2015). The effects of histamine on type 2 innate lymphoid cells. *EAACI Online Library*, 103852.
- Moro, J., Tome, D., Schmidely, P., Demersay, T. y Azzout-Marniche, D. (2020). Histidine: a systematic review on metabolism and physiological effects in human and different animal species. *Nutrients*, 12: 51414. doi: 10.3390/nu12051414.
- Nakada, M. (2000). Yellowtail and related species culture. En: Stickney, R.R. (ed.). *Encyclopedia of Aquaculture*. Wiley, London, pp. 1007–1036.
- Ogata, H. (2002). Muscle buffering capacity of yellowtail fed diets supplemented with crystalline histidine. *Journal of Fish Biology*, 61: 1504–1512. doi: 10.1006/jfbi.2002.2169.
- Ogino, C. y Guang-Yang, Y. (1978). Requirement of rainbow trout for dietary zinc. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 44: 1015–1018. doi: 10.2331/suisan.44.1015.
- Orsetti, V. (2007). Molecular studies of piscine hatching enzymes: Choriolysin gene structure and expression. Tesis Doctoral. University of Victoria, Victoria, Canada.
- Pastor, E., Grau, A., Riera, F., Pou, S., Massuti, E. y Grau, A.M. (2000). Experiences in the culture of new species in the Estación de Acuicultura of the Balearic Government (1980–1998). En: Basurco, B. (ed.). *Cahiers Options Méditerranéennes, Mediterranean Marine Aquaculture Fish Species Diversification*. Vol. 47, pp. 371–379. CIHEAM.
- Peachey, B.L., Scott, E.M. y Gatlin, D.M. (2018). Dietary histidine requirement and physiological effects of dietary histidine deficiency in juvenile red drum *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*, 483: 244–251. doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.10.032.
- Peterson, J.W., Boldogh, I., Popov, V.L., Saini, S.S. y Chopra, A.K. (1998). Anti-inflammatory and antisecretory potential of histidine in *Salmonella*-challenged mouse small intestine. *Laboratory Investigation*, 78: 523–534.
- Peterson, J.W., King, D., Ezell, E.L., Rogers, M., Gessell, D., Hoffpauer, J., Reuss, L., Chopra, A.K. y Gorenstein, D. (2001). Cholera toxin-induced PGE2 activity is reduced by chemical reaction with L-histidine. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Basis of Disease*, 1537: 27–41. doi: 10.1016/S0925-4439(01)00052-7.
- Picchiatti, S., Fausto, A.M., Randelli, E., Carnevali, O., Taddei, A.R., Buonocore, F., Scapigliati, G. y Abelli, L. (2009). Early treatment with *Lactobacillus delbrueckii* strain induces an increase in intestinal T-cells and granulocytes and modulates immune-related genes of larval *Dicentrarchus labrax* (L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 26: 368–376. doi: 10.1016/j.fsi.2008.10.008.
- Pineda, M. y Zambrano, C. (2022). Factibilidad técnica del cultivo de juveniles de *Seriola rivoliana* utilizando una dieta alternativa basada en alevines de *Oreochromis* sp. Escuela Superior Politécnica del Litoral.

- Poon, I.K., Patel, K.K., Davis, D.S., Parish, C.R. y Hulett, M.D. (2011). Histidine-rich glycoprotein: The Swiss Army knife of mammalian plasma. *Blood*, 117: 2093–2101. doi: 10.1182/blood-2010-08-303651.
- Prabhu, P.A.J., Schrama, J.W. y Kaushik, S.J. (2016). Mineral requirements of fish: A systematic review. *Reviews in Aquaculture*, 8: 172–219.
- Ravi, J. y Devaraj, K.V. (1991). Quantitative essential amino acid requirements for growth of catla, *Catla catla* (Hamilton). *Aquaculture*, 96(3–4): 281–291.
- Reznik, N., Gallo, A.D., Rush, K.W., Javitt, G., Fridmann-Sirkis, Y., Ilani, T., Nairner, N.A., Fishilevich, S., Gokhman, D., Chacón, K.N., Franz, K.J. y Fass, D. (2022). Intestinal mucin is a chaperone of multivalent copper. *Cell*, 185(22): 4206–4215.e11. doi: 10.1016/j.cell.2022.09.021.
- Rhodes, J.D., Breck, O., Waagbo, R., Bjerkas, E. y Sanderson, J. (2010). N-acetylhistidine, a novel osmolyte in the lens of Atlantic salmon. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 229: 1075–1081. doi: 10.1152/ajpregu.00214.2010.
- Rubino, J.T. y Franz, K.J. (2012). Coordination chemistry of copper proteins: how nature handles a toxic cargo for essential function. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 107: 129–143. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2011.11.024.
- Sari, S., Djellata, A., Roo, J., Hernández-Cruz, C.M., Fontanillas, R., Rosenlund, G., Izquierdo, M. y Fernández-Palacios, H. (2019). Effects of increased protein, histidine and taurine dietary levels on egg quality of greater amberjack (*Seriola dumerili*, Risso, 1810). *Aquaculture*, 499: 72–79. doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.09.011.
- Severin, A., Purcell, C., Drawbridge, M., Masonbrink, R., Seetharam, A., Ozaki, A. y Hyde, J. (2016). *Seriola* genomics and the knowledge repository serioladb.org. En: *US–Japan Aquaculture Panel Symposium*, p. 52.
- Sicuro, B. y Luzzana, U. (2016). The state of *Seriola* spp. other than yellowtail (*S. quinqueradiata*) farming in the world. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 24: 314–325.
- Son, D.O., Satsu, H. y Shimizu, M. (2005). Histidine inhibits oxidative stress- and TNF- α -induced interleukin-8 secretion in intestinal epithelial cells. *FEBS Letters*, 579: 4671–4677. doi: 10.1016/j.febslet.2005.07.038.
- Sovágó, I., Várnagy, K., Lihi, N. y Grenács, Á. (2016). Coordinating properties of peptides containing histidyl residues. *Coordination Chemistry Reviews*, 327: 43–54. doi: 10.1016/j.ccr.2016.04.015.
- Spry, D.I., Hodson, P.V. y Wood, C.M. (1988). Relative contributions of dietary and waterborne zinc in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 45: 32–41. doi: 10.1139/f83-173.
- St John, A.L. y Abraham, S.N. (2013). Innate immunity and its regulation by mast cells. *Journal of Immunology*, 190: 4458–4463. doi: 10.4049/jimmunol.1203420.
- Taj, S., Ma, L., Wu, X., Ye, B., Geng, L., Zhou, Z., Wang, X. y Mu, W. (2022). Effects of dietary histidine levels on growth performance, feed utilization, and expression of related genes of juvenile hybrid grouper *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂. *Aquaculture Nutrition*, 2022: 1–13. doi: 10.1155/2022/7738843.
- Tan, L.N., Feng, L., Liu, Y., Jiang, J., Jiang, W.D., Hu, K., Li, S.H. y Zhou, X.Q. (2011). Growth, body composition and intestinal enzyme activities of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of dietary zinc. *Aquaculture Nutrition*, 17: 338–345. doi: 10.1111/j.1365-2095.2010.00793.x.
- Teles, A., Alvarez-González, C.A., Llera-Herrera, R., Gisbert, E., Salas-Leiva, J., Rodríguez-Jaramillo, M.C. y Tovar-Ramírez, D. (2022). *Debaryomyces hansenii* CBS 8339 promotes larval development in *Seriola rivoliana*. *Aquaculture*, 560: 738587. doi: 10.1016/j.aquaculture.2022.738587.
- Torres, N., Martínez, L., Alemán, G., Bourges, H. y Tovar, A.R. (1998). Histidase expression is regulated by dietary protein at the pretranslational level in rat liver. *Journal of Nutrition*, 128: 818–824. doi: 10.1093/jn/128.5.818.
- Vaughan-Jones, R.D., Spitzer, K.W. y Swietach, P. (2009). Intracellular pH regulation in heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 46: 318–331. doi: 10.1016/j.yjmcc.2008.10.024.

- Vo, T.S. y Kim, S.K. (2013). Down-regulation of histamine-induced endothelial cell activation as potential anti-atherosclerotic activity of peptides from *Spirulina maxima*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50: 198–207. doi: 10.1016/j.ejps.2013.06.004.
- Wade, A.M. y Tucker, H.N. (1998). Antioxidant characteristics of L-histidine. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 9: 308–315. doi: 10.1016/S0955-2863(98)00026-2.
- Yamamoto, K., Kushima, R., Kisaki, O., Fujiyama, Y. y Okabe, H. (2003). Combined effect of hydrogen peroxide induced oxidative stress and IL-1 β on IL-8 production in Caco-2 cells (a human colon carcinoma cell line) and normal intestinal epithelial cells. *Inflammation*, 27: 123–128. doi: 10.1023/A:1023516500670.
- Yamamoto, T., Matsunari, H., Oku, H., Murashita, K., Yoshinaga, H. y Furuita, H. (2019). Supplemental effects of histidine to fishmeal-based and low-fishmeal diets on the growth performance and tissue free amino acid levels of fingerling yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Aquaculture Science*, 67: 367–375. doi: 10.11233/AQUACULTURESCI.67.367.
- Yamauchi, Y., Fujikura, T. y Shimosawa, T. (2007). The effect of H1 antagonists carebastine and olopatadine on histamine induced expression of CC chemokines in cultured human nasal epithelial cells. *Allergology International*, 56: 171–177. doi: 10.2332/allergolint.O-06-445.
- Yang, Q., Liang, H., Mokrani, A. et al. (2019). Dietary histidine affects intestinal antioxidant enzyme activities, antioxidant gene expressions and inflammatory factors in juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). *Aquaculture Nutrition*, 25: 249–259. doi: 10.1111/anu.12844.
- Zahran, E., Elbahnaswy, S., Mansour, A.I.A., Risha, E., Mustafa, A., Alqahtani, A.S., Sebaei, M.G.E. y Ahmed, F. (2024). Dietary algal-sourced zinc nanoparticles promote growth performance, intestinal integrity, and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *BMC Veterinary Research*, 20: 1–15. doi: 10.1186/s12917-024-04077-w.
- Zehra, S. y Khan, M.A. (2016). Dietary histidine requirement of fingerling *Catla catla* (Hamilton) based on growth, protein gain, histidine gain, RNA/DNA ratio, haematological indices and carcass composition. *Aquaculture Research*, 47: 1028–1039. doi: 10.1111/are.12558.

Author Contributions

All authors listed on this publication made substantial contributions to at least one of the following aspects: the conception or design of the work; the acquisition, analysis, or interpretation of data. In addition, all authors were involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content. They have all approved the final version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work, ensuring that any questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

June 24, 2026

Declaration of competing interests.

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

All authors have agreed to the submission of this manuscript and have no conflicts of interest to declare.