

## Diversity of migratory environmental history of the mullets *Mugil cephalus* and *M. curema* in Mexican coastal waters as indicated by otolith Sr:Ca ratios

### Diversidad ambiental de las historias migratorias de los mugílidos *Mugil cephalus* y *M. curema* en aguas costeras mexicanas analizadas mediante la proporción de Sr:Ca en los otolitos

AL Ibáñez<sup>1\*</sup>, CW Chang<sup>2</sup>, CC Hsu<sup>3</sup>, CH Wang<sup>4</sup>, Y Iizuka<sup>5</sup>, WN Tzeng<sup>4,6\*</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Hidrobiología, México DF, México.

<sup>2</sup> National Museum of Marine Biology and Aquarium, and Institute of Marine Biodiversity and Evolutionary Biology, National Donghwa University, Taiwan, ROC.

<sup>3</sup> Earth Dynamic System Research Center, National Chengkung University, Taiwan, ROC.

<sup>4</sup> Department of Environmental Biology and Fisheries Science, National Taiwan Ocean University, Taiwan, ROC.

<sup>5</sup> Institute of Earth Sciences, Academia Sinica, Taiwan, ROC.

<sup>6</sup> Institute of Fisheries Science, National Taiwan University, Taiwan, ROC.

\* Corresponding authors. E-mail: ana@xanum.uam.mx, wnt@ntu.edu.tw

**ABSTRACT.** To understand their migratory environmental history and habitat use in Mexican waters, 31 striped mullet *Mugil cephalus* and 40 white mullet *M. curema* (family Mugilidae) were collected from three habitats (Tamiagua Lagoon, and Cazonos and Tecolutla estuaries, Veracruz) in the western Gulf of Mexico. Sr:Ca ratios in otoliths of mullets were measured from the primordium to the otolith edge with an electron probe microanalyzer. Mulletts were aged by counting the otolith annuli. The patterns in mullet otolith Sr:Ca ratio differed among habitats and between species, indicating that habitat use and migratory behavior differed between species. Variability in otolith Sr:Ca ratios was consistent with that of the environment inhabited by the mullets. They showed a more diverse euryhaline preference than the simple catadromous behavior expected. The Sr:Ca ratios in the core region of the otolith indicated that mullets can spawn in both offshore waters and nearshore brackish waters, or that spawning may occur in offshore waters and that onshore currents/winds carry the fertilized eggs into onshore waters where salinities are lower. Peak Sr:Ca ratios corresponded to otolith annulus deposition, which validated the difference in timing of seaward spawning migration between striped mullet (winter) and white mullet (spring).

*Key words:* *Mugil cephalus*, *Mugil curema*, otolith, Sr:Ca ratios, migratory environmental history.

**RESUMEN.** Con el objeto de entender la historia migratoria y el uso del hábitat de dos mugílidos de importancia comercial en México, se recolectaron 31 ejemplares de la lisa *Mugil cephalus* y 40 de la lebrancha *M. curema* de tres zonas geográficas distintas (la laguna de Tamiagua y los estuarios de Cazonos y Tecolutla, Veracruz) del oeste del golfo de México. Se midió la proporción de Sr:Ca en los otolitos sagita desde el primordio hasta el margen del otolito con un microanalizador de electrones. La edad de los ejemplares fue determinada contando los anillos de crecimiento en el otolito. Los patrones de Sr:Ca fueron diferentes entre zonas geográficas y especies, lo que indica que el uso del hábitat y el comportamiento migratorio es distinto entre las dos especies. La variabilidad de la proporción de Sr:Ca en los otolitos fue consistente con el ambiente en el que habitan estas especies. Estos mugílidos muestran una preferencia eurihalina más que simplemente un comportamiento catádro. La proporción de Sr:Ca en el núcleo de los otolitos indicó que estos mugílidos pueden desovar tanto en aguas marinas como en ambientes salobres o que posiblemente desoven en ambientes marinos y los huevos sean transportados a ambientes costeros salobres. Los valores máximos de la proporción de Sr:Ca correspondieron a la depositación del anillo anual, lo que valida las diferencias en la migración reproductiva al mar que realiza *M. cephalus* en invierno y *M. curema* en primavera.

*Palabras clave:* *Mugil cephalus*, *Mugil curema*, otolitos, proporción Sr:Ca, historia migratoria ambiental.

## INTRODUCTION

The striped mullet *Mugil cephalus* Linnaeus 1758 is widely distributed in coastal waters, lagoons, and estuaries from 42° N to 42° S (De Silva and Silva 1979), whereas the white mullet *M. curema* (Valenciennes 1836) is essentially an American species, distributed from Nova Scotia (Canada) to Brazil on the east coast and from California to

## INTRODUCCIÓN

La lisa cabezona *Mugil cephalus* Linnaeus 1758 se distribuye ampliamente en aguas costeras, lagunas y estuarios entre 42° N y 42° S (De Silva y Silva 1979), mientras que la lisa blanca o lebrancha *M. curema* (Valenciennes 1836) es esencialmente una especie americana que se distribuye desde Nueva Escocia (Canadá) hasta Brasil en la

Chile on the west coast of America (Nirchio *et al.* 2005, Bonner 2007), with a few populations in African waters (Alvarez-Lajonchere 1976). Mexico is one of the top ten productive countries of mullet in the world (FAO 2009), with a mean annual production of approximately 12,000 t yr<sup>-1</sup> (SAGARPA 2009), and a very valuable source of roe. About 99% of mullet production is captured in Madre and Tamiahua lagoons in the western Gulf of Mexico.

*Mugil cephalus* spawns annually in the Gulf of Mexico from November to February, coinciding with the seasonal monsoon driven by northern winds (Ibáñez and Gallardo-Cabello 2004, Ibáñez and Gutiérrez-Benítez 2004). *Mugil curema* also spawns in the Gulf of Mexico but from February to May, with a peak in April (Anderson 1958, Arnold and Thompson 1958, Moore 1974, Finucane *et al.* 1978, Render *et al.* 1995). The difference in spawning season between species produces a three-month difference in recruitment timing (Ibáñez 1993, Ibáñez and Gallardo-Cabello 2004). Mulletts are assumed to be catadromous, migrating from estuary to offshore to spawn (De Silva 1980, Torricelli *et al.* 1982). Juvenile mulletts are believed to enter Tamiahua and Madre lagoons where they live until maturation and the beginning of their spawning migration (Ibáñez and Gallardo-Cabello 2004, Ibáñez and Gutiérrez-Benítez 2004). Recent studies, however, indicate that the migratory patterns of *M. cephalus* in Taiwan diverge from those previously known (Chang *et al.* 2004a). Migratory environmental history of the mulletts *M. cephalus* and *M. curema* in the Gulf of Mexico, especially among river-estuarine systems, coastal lagoons, and offshore spawning areas, is not clearly understood.

Otoliths of teleost fish are composed of calcium carbonate deposited regularly as aragonite crystals in a protein matrix (Degens *et al.* 1969, Pannella 1971). Otolith elements such as strontium (Sr):calcium (Ca) ratios have been used as a natural tag to reconstruct the past migratory environmental history of fish because Sr incorporated into the otolith is positively correlated with the ambient salinities (Secor *et al.* 1995, Tzeng 1996, Campana 1999, Zimmerman 2005). Two different approaches have validated otolith Sr:Ca ratios in relation to ambient salinities. The first consists of laboratory-controlled experiments in which fish are reared in different salinity regimes to see if the otolith elements change with the concentration of the element in the water (Tzeng 1996, Secor *et al.* 1998, Elsdon and Gillanders 2006). The second method examines the Sr:Ca ratios in the otolith edge of fish collected from habitats of different salinity (Tzeng *et al.* 1997, 2002, 2003; Chang *et al.* 2004b). Chronological changes in otolith Sr:Ca ratios have been applied to establish the migratory environmental histories of many diadromous fishes, such as striped bass *Morone saxatilis* (Secor 1992, Secor and Piccoli 1996); the freshwater eels *Anguilla japonica*, *A. anguilla*, and *A. rostrata* (e.g., Tzeng *et al.* 1997, 2002, 2003; Jessop *et al.* 2002) that migrate between freshwater and marine environments; and striped mullet *M. cephalus* (Chang *et al.* 2004a, 2004b).

costa oriental y desde California hasta Chile en la costa occidental de América (Nirchio *et al.* 2005, Bonner 2007), con unas cuantas poblaciones en aguas africanas (Alvarez-Lajonchere 1976). México es uno de los diez países más productivos de mugílidos en el mundo (FAO 2009), con una producción anual promedio de aproximadamente 12,000 t año<sup>-1</sup> (SAGARPA 2009), y es una fuente muy valiosa de hueva. Alrededor del 99% de la producción de mugílidos se captura en las lagunas Madre y Tamiahua en la región occidental del golfo de México.

*Mugil cephalus* desova anualmente en el golfo de México entre noviembre y febrero, coincidiendo con el monzón estacional impulsado por vientos del norte (Ibáñez y Gallardo-Cabello 2004, Ibáñez y Gutiérrez-Benítez 2004). *Mugil curema* también desova en el golfo de México pero entre febrero y mayo, con máxima actividad en abril (Anderson 1958, Arnold y Thompson 1958, Moore 1974, Finucane *et al.* 1978, Render *et al.* 1995). La diferencia de la temporada de desove entre las especies produce una diferencia de tres meses en el tiempo de reclutamiento (Ibáñez 1993, Ibáñez y Gallardo-Cabello 2004). Se supone que los mugílidos son especies catádromas y que migran de aguas estuarinas al mar para desovar (De Silva 1980, Torricelli *et al.* 1982). Los individuos jóvenes aparentemente ingresan a las lagunas Madre y Tamiahua donde permanecen hasta que maduran e inician su migración de desove (Ibáñez y Gallardo-Cabello 2004, Ibáñez y Gutiérrez-Benítez 2004). Sin embargo, estudios recientes indican que los patrones migratorios de *M. cephalus* en Taiwán difieren de los previamente conocidos (Chang *et al.* 2004a). La historia migratoria de las lisas *M. cephalus* y *M. curema* en el golfo de México, especialmente entre sistemas fluvio-estuarinos, lagunas costeras y zonas de desove mar adentro, no es bien conocida.

Los otolitos de peces teleósteos están compuestos de carbonato de calcio depositado regularmente como cristales de aragonita en una matriz proteica (Degens *et al.* 1969, Pannella 1971). Se han utilizado elementos del otolito como la proporción de estroncio (Sr) y calcio (Ca) como una etiqueta natural para reconstruir la historia migratoria de peces ya que el Sr incorporado en los otolitos se correlaciona positivamente con la salinidad ambiental (Secor *et al.* 1995, Tzeng 1996, Campana 1999, Zimmerman 2005). Existen dos métodos para validar la proporción de Sr:Ca en relación con la salinidad ambiental. El primero consiste en experimentos de laboratorio controlados en los que se crían peces en diferentes regímenes de salinidad para ver si los elementos constituyentes del otolito cambian con la concentración del elemento en el agua (Tzeng 1996, Secor *et al.* 1998, Elsdon y Gillanders 2006). El segundo método evalúa la proporción de Sr:Ca en el margen del otolito de peces recolectados en hábitats de salinidad diferente (Tzeng *et al.* 1997, 2002, 2003; Chang *et al.* 2004b). Se han empleado cambios cronológicos en la proporción de Sr:Ca en otolitos para establecer las historias migratorias de varios peces diádrómicos, tales como la lubina estriada *Morone saxatilis* (Secor 1992, Secor

This study examined the chronological changes in otolith Sr:Ca ratios to understand habitat use and migratory behavior of the mullets *M. cephalus* and *M. curema* among geographic zones in Mexican waters. The Sr:Ca ratios at the otolith core were also analyzed to understand the spawning habitats. The peak Sr:Ca ratios in relation to age marks in otoliths were examined to understand seasonal onshore and offshore migration of these mullets.

## MATERIAL AND METHODS

### Sampling design and biological measurement

Specimens of *M. cephalus* and *M. curema* were collected from the commercial catch from Tamiahua Lagoon (21°06'–22°06' N and 97°23'–97°46' W) in November 2006, and from Cazonos Estuary (20°43' N and 97°11' W) and Tecolutla Estuary (20°29' N and 97°00' W), in the Mexican state of Veracruz, in March 2007 (fig. 1). The area of Tamiahua Lagoon (henceforth TaL) is about 88,000 ha. The lagoon is mainly brackish but its salinity is greatly influenced by tidal currents, precipitation, and river discharge (Camacho-Barrera *et al.* 1983). Basically, the inlets of the lagoon (Tampachiche to the north and Corazonos to the south) are euhaline with salinity higher than 30, while the rest of the lagoon is polyhaline with salinity between 16 and 30 (Camacho-Barrera *et al.* 1983). Salinity in the lagoon fluctuates seasonally between 32.5 and 34.7 during the dry season in spring and around 4 during the wet season in October (Alaves 1978). Salinity in Tecolutla Estuary (TeE) varied from 3.68 in December to 0.46 in June (Delon 1984). Little information is available for the salinity in Cazonos Estuary (CaE), but samples from the river and river mouth during March 2010 revealed salinity stratification with freshwater on the surface and salinity varying between 4 and 6 at 2 m depth. Water temperature changed from 25.3 °C at the surface to 21.3 °C at 2 m depth.

Ten mullets were randomly selected from the catch in each sampling, except in TeE where only one specimen of *M. cephalus* was available, and their right sagittal otoliths were removed for Sr:Ca ratio analysis. A total of 31 *M. cephalus* and 40 *M. curema* were analyzed (table 1). Total length (TL, mm) to  $\pm 1$  mm and total weight (TW, g) to  $\pm 1$  g were measured. Sex and gonad maturation were determined *in situ*. The stages of sexual maturity for both species were determined following Díaz-Pardo and Hernández-Vázquez (1980): stage I is the juvenile stage; in stage II, gonads occupy 1/3 of the abdominal cavity of the fish; in stage III, gonads occupy from 1/2 to 3/4 of the abdominal cavity and the oocytes are not yet individualized; in stage IV, the pre-spawning stage, gonads occupy from 3/4 to the total abdominal cavity and oocytes are individualized; in stage V, the spawning stage, gonads occupy the total abdominal cavity and the oocytes and the semen can be released by squeezing the body; and stage VI is the post-spawning stage.

y Piccoli 1996); las anguilas de agua dulce *Anguilla japonica*, *A. anguilla* y *A. rostrata* (e.g., Tzeng *et al.* 1997, 2002, 2003; Jessop *et al.* 2002) que migran entre agua dulce y ambientes marinos; y la lisa *M. cephalus* (Chang *et al.* 2004a, 2004b).

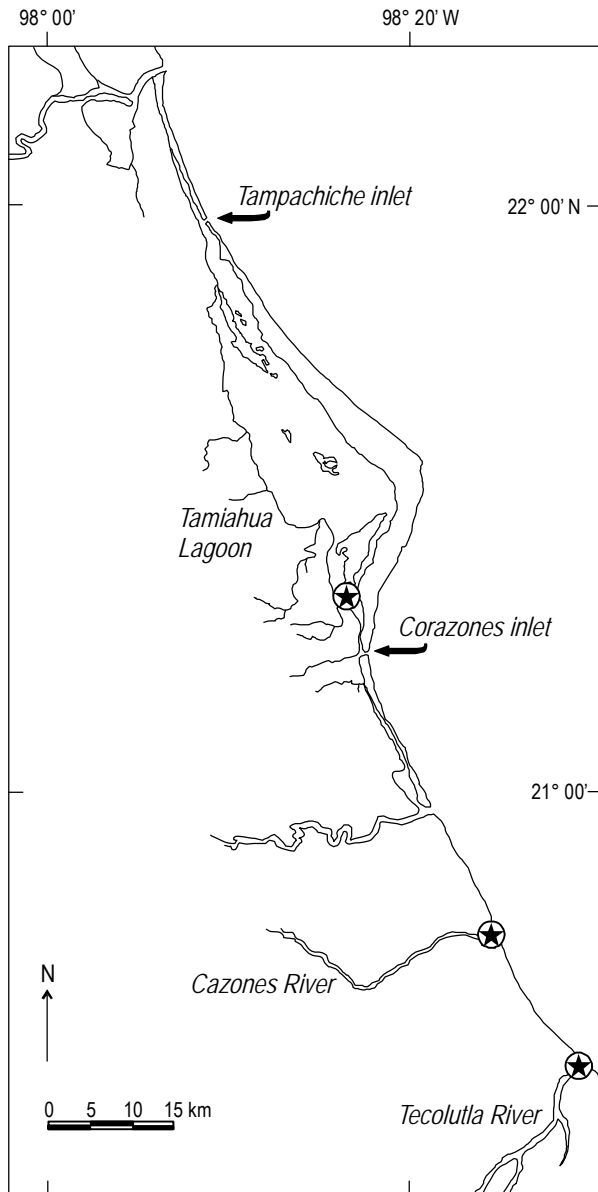
El objetivo del presente estudio fue evaluar los cambios cronológicos en la proporción de Sr:Ca en los otolitos para entender el uso de hábitat y el comportamiento migratorio de *M. cephalus* and *M. curema* entre zonas geográficas de aguas mexicanas. Asimismo, se analizó la proporción de Sr:Ca en el núcleo de los otolitos para entender los hábitats de desove, y se examinaron las máximas proporciones de Sr:Ca en relación con las marcas de crecimiento en los otolitos para entender la migración hacia la costa y hacia el mar de estos mugilidos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño de muestreo y medición biológica

Se recolectaron especímenes de *M. cephalus* y *M. curema* de la captura comercial de la laguna de Tamiahua (21°06'–22°06' N y 97°23'–97°46' W) en noviembre de 2006, y de los estuarios de Cazonos (20°43' N y 97°11' W) y Tecolutla (20°29' N y 97°00' W), en el estado de Veracruz (México), en marzo de 2007 (fig. 1). El área de la laguna de Tamiahua (de aquí en adelante TaL) es de alrededor de 88,000 ha. La laguna es principalmente salobre pero su salinidad es muy influenciada por las corrientes mareales, la precipitación y las descargas fluviales (Camacho-Barrera *et al.* 1983). Básicamente, las bocas de la laguna (Tampachiche al norte y Corazonos al sur) son euhalinas con salinidad mayor que 30, mientras que el resto de la laguna es polihalina con salinidad entre 16 y 30 (Camacho-Barrera *et al.* 1983). La salinidad en la laguna oscila estacionalmente entre 32.5 y 34.7 durante la época seca en primavera y alrededor de 4 durante la época de lluvias en octubre (Alaves 1978). La salinidad en el estuario de Tecolutla (TeE) varió de 3.68 en diciembre a 0.46 en junio (Delon 1984). Existe poca información sobre la salinidad del estuario de Cazonos (CaE), pero muestras recolectadas del río y de la boca del río en marzo de 2010 mostraron una estratificación de la salinidad, con agua dulce en la superficie y una salinidad entre 4 y 6 a 2 m de profundidad. La temperatura del agua varió entre 25.3 °C en la superficie y 21.3 °C a 2 m de profundidad.

En cada muestreo se seleccionaron 10 lisas aleatoriamente de la captura, excepto en TeE donde sólo se recolectó un ejemplar de *M. cephalus*, y se les extrajo el otolito sagital derecho para analizar la proporción de Sr:Ca. Se analizaron un total de 31 ejemplares de *M. cephalus* y 40 de *M. curema* (tabla 1). Se midió la longitud total (LT, mm) con precisión de  $\pm 1$  mm y el peso total (PT, g) con precisión de  $\pm 1$  g. El sexo y la maduración gonadal se determinaron *in situ*. Se determinaron las etapas de maduración sexual de ambas especies según lo propuesto por Díaz-Pardo y Hernández-Vázquez (1980): la etapa I corresponde a la etapa juvenil; en



**Figure 1.** Sampling locations (black stars) in the Gulf of Mexico: Tamiahua Lagoon, and Cazones and Tecolutla estuaries.

**Figura 1.** Sitios de muestreo (estrellas negras) en el golfo de México: laguna de Tamiahua y estuarios de Cazones y Tecolutla.

### Otolith preparation for microchemistry analysis and age determination

Otoliths were cleared, air dried, embedded in epoxy resin, transversely sectioned into a thin slice of *ca.* 300  $\mu\text{m}$  in thickness, polished until the primordium was exposed, and then carbon coated. The Sr and Ca concentrations of the polished otolith were measured from the primordium to the otolith edge at an interval of 10  $\mu\text{m}$  by an electron probe micro-analyzer (JEOL JXA-8900R) equipped with wavelength dispersive X-ray spectrometers. Analyses were performed

la etapa II, las gónadas ocupan 1/3 de la cavidad abdominal del pez; en la etapa III, las gónadas ocupan de 1/2 a 3/4 de la cavidad abdominal y los ovocitos individuales aún no son visibles; en la etapa IV, la etapa de predesove, las gónadas ocupan de 3/4 al total de la cavidad abdominal y los ovocitos son visibles; en la etapa V, la etapa de desove, las gónadas ocupan toda la cavidad abdominal y se pueden liberar los ovocitos y el esperma al oprimir el cuerpo; y la etapa VI corresponde a la etapa de posdesove.

### Preparación del otolito para el análisis microquímico y la determinación de la edad

Los otolitos se limpiaron, se secaron al aire, se incluyeron en resina epoxi, se seccionaron transversalmente para obtener una lámina delgada de *ca.* 300  $\mu\text{m}$  de espesor, se pulieron hasta quedar expuesto el primordio y se cubrieron con carbono. Se midieron las concentraciones de Sr y Ca del otolito pulido desde el primordio hasta el margen del otolito, con un intervalo de 10  $\mu\text{m}$ , mediante un microanalizador de sonda de electrones (JEOL JXA-8900R) equipado con espectrómetros de rayos X de dispersión de longitud de onda. Los análisis fueron realizados con un voltaje de aceleración de 15 kV, una corriente del haz de 3 nA y un haz de barrido rectangular de 5  $\times$  4  $\mu\text{m}$ . La máxima intensidad de rayos X de Sr *La* fue contada durante 80 segundos con mediciones de fondo durante 20 segundos a cada lado superior e inferior. La máxima intensidad de rayos X de Ca *K $\alpha$*  se contó durante 20 segundos y cada medición de fondo durante 10 segundos. Se usaron una aragonita sintetizada (CaCO<sub>3</sub>) y una estroncianita nativa ([Sr<sub>0.95</sub>Ca<sub>0.05</sub>]CO<sub>3</sub>; NMNH R10065) como estándares para calibrar la concentración de Ca y Sr en los otolitos mediante el método de corrección de PRZ. El límite de detección, que se basa en el límite de control de 3 sigma, es aproximadamente 400 ppm para Sr. Los datos de conteo de Sr y Ca en otolitos se expresan como proporciones de la concentración de Sr:Ca (ppm·ppm<sup>-1</sup>).

Después del microanálisis de electrones, los otolitos fueron ligeramente repulidos para quitar la capa de carbono y se sumergieron en una solución de HCl al 5% durante 10 segundos para mejorar la definición de los anillos de crecimiento anual. La edad se determinó contando los anillos de crecimiento (zonas opacas) en una fotografía del otolito tomada bajo luz reflejada. Se evaluaron los valores máximos de la proporción de Sr:Ca correspondiendo al anillo anual para validar el desove en el mar y/o las migraciones de invierno con el suavizador robusto no lineal 4253H-doble (Tukey 1977). La identificación de un anillo de crecimiento anual por zona opaca se realizó siguiendo los criterios de Ibáñez y Gallardo-Cabello (1996) y Hsu y Tzeng (2009).

### Análisis de datos

Los valores medios de la proporción de Sr:Ca en los otolitos se calcularon desde el primordio hasta el margen dorsal del otolito para cada individuo. Se probaron las diferencias

using beam conditions of 15 kV for the accelerating voltage, 3 nA for the beam current, and a  $5 \times 4 \mu\text{m}$  rectangular scanning beam. The X-ray peak intensity of Sr  $L\alpha$  was counted for 80 seconds with background measurements for 20 seconds on each upper and lower side. The X-ray peak intensity of Ca  $K\alpha$  was counted for 20 seconds and each background for 10 seconds. A synthesized aragonite ( $\text{CaCO}_3$ ) and native strontianite ( $[\text{Sr}_{0.95}\text{Ca}_{0.05}]\text{CO}_3$ ; NMNH R10065) were used as standards to calibrate the concentration of Ca and Sr in the otolith with the PRZ correction. The detection limit, which is based on 3-sigma of the baseline count, is approximately 400 ppm for Sr. The counting data of Sr and Ca in otoliths are expressed as ratios of Sr:Ca concentration ( $\text{ppm}\cdot\text{ppm}^{-1}$ ).

After electron probe microanalysis, otoliths were slightly repolished to remove the carbon coating and then etched with 5% HCl solution for 10 seconds to enhance the annuli in the otolith. Mullet ages were determined by counting the annuli (opaque zones) in an otolith photograph taken under reflected light. The peak otolith Sr:Ca ratios corresponding to the

significativas de los valores medios entre especies, sitios de muestreo, grupos de edad y meses mediante el método no paramétrico de Kruskal-Wallis ya que los datos no cumplieron con el requisito de homogeneidad de varianza y los tamaños de muestra eran diferentes. Cuando se encontraron diferencias, se realizaron comparaciones de los valores medios de la proporción de Sr:Ca entre pares con la prueba de Mann-Whitney. Se utilizó la distribución de frecuencia de las proporciones de Sr:Ca construidas por sitio de muestreo y por edad para examinar la diferencia en el uso del hábitat entre especies. Además, se utilizaron diagramas de cajas para analizar la variabilidad de las proporciones de Sr:Ca por especie, sitio y mes. La diferencia de las proporciones de Sr:Ca en el núcleo de los otolitos entre especies, sitios y meses se evaluó mediante un análisis de varianza univariado. Se evaluaron la homogeneidad de varianza y la normalidad con la prueba de Levene y la prueba de Shapiro-Wilk, respectivamente, con un nivel de significación de  $\alpha = 0.05$ .

Los mugilidos se clasificaron en residentes de agua dulce, de agua salobre y de agua marina con base en los criterios

**Table 1.** Length, weight, and gonadal development stage of *Mugil cephalus* and *M. curema* used for otolith Sr:Ca ratio analysis; *n*, sample size. M, males; F, females; and U, undifferentiated. Gonad stages: I–III, developing; IV, pre-spawning; V, spawning; and VI: post-spawning.

**Tabla 1.** Longitud, peso y estado de desarrollo gonádico de los ejemplares de *Mugil cephalus* y *M. curema* empleados para el análisis de la proporción de Sr:Ca en los otolitos; *n*, tamaño de muestra. M, machos; F, hembras; y U, indiferenciado. Estados gonádicos: I–III, en desarrollo; IV, predesove; V, desove; y VI: posdesove.

Sampling site	Date	Sex	Gonad stage	Total length (mm)	Body weight (g)	<i>n</i>
<b><i>Mugil cephalus</i></b>						
Tamiahua Lagoon	Nov. 2006	F	III–IV	460–523	1059–1346	5
		M	III–IV	425–466	814–1118	5
	Mar. 2007	F	I–II	336–375	364–635	5
		M	I–II	342–364	405–444	5
Cazones Estuary	Mar. 2007	F	II, VI	347–450	256–613	6
		M	II, VI	310–402	242–492	3
		U	–	315	190	1
Tecolutla Estuary	Mar. 2007	U	–	372	449	1
Total				310–523	190–1346	31
<b><i>Mugil curema</i></b>						
Tamiahua Lagoon	Nov. 2006	F	I–II	287–307	227–293	5
		M	I–II	267–300	184–262	5
	Mar. 2007	F	V	287–326	185–336	4
		M	V	261–275	174–195	6
Cazones Estuary	Mar. 2007	F	II, V	274–302	214–279	5
		M	II	273–325	180–285	5
Tecolutla Estuary	Mar. 2007	F	III, V	330–359	261–416	7
		M	II–III, V	284–362	186–441	3
Total				261–362	174–441	40

annulus were examined to validate the seaward spawning and/or wintering migration using the robust nonlinear smoother 4253H-twice (Tukey 1977). Identification of an annulus by opaque zone followed the criteria of Ibáñez and Gallardo-Cabello (1996) and Hsu and Tzeng (2009).

### Data analysis

Mean otolith Sr:Ca ratios were calculated from the primordium to the dorsal otolith edge for each individual. Significant differences in mean otolith Sr:Ca ratios between species, sampling locations, age groups, and months were tested by the Kruskal-Wallis nonparametric method because the data did not meet the homogeneity of variance requirement and samples were of different sizes. When differences were found, comparisons of mean Sr:Ca ratios between sample pairs were made with the Mann-Whitney test. The frequency distribution of otolith Sr:Ca ratios constructed by sampling location and by age was used to examine the difference in habitat residence between species. In addition, box plots were used to analyze the variability of the Sr:Ca ratios by species, location, and month. The difference of the Sr:Ca ratios in the otolith core between species, locations, and months were assessed by univariate analysis of variance. Homogeneity of variance and normality were assessed by Levene's test and the Shapiro-Wilk test, respectively, with a significance level of  $\alpha = 0.05$ .

Mullets were classified into freshwater, brackish water, and marine residents based on the criteria of Chang *et al.* (2004b), where the mean otolith Sr:Ca ratios within the range of  $3 \times 10^{-3}$  to  $7 \times 10^{-3}$  corresponded to brackish water residents, and those above this range corresponded to marine residents and those below corresponded to freshwater residents. Although an experiment on the relationship between otolith Sr:Ca ratios and salinity has not been done for mullet species in Mexican waters, we consider that the relationship between otolith Sr:Ca ratios and salinity should be similar to that for *M. cephalus* from Taiwan (Chang *et al.* 2004a, 2004b; Wang *et al.* 2010, 2011) and for other catadromous species such as the American, European, and Japanese eels (Daverat *et al.* 2006).

## RESULTS

### Seasonal migration as indicated by the peak Sr:Ca ratios in relation to otolith age mark

Chronological change of Sr:Ca ratios and age marks (opaque bands) in the otoliths of both mullets, *M. cephalus* and *M. curema*, showed that the peak Sr:Ca ratios corresponded to the deposition timing of age marks (opaque bands) (figs. 2a, b; 3a, b). Otolith age marks were usually deposited in the slow-growth period of the fish during winter or spawning, while the peak may indicate the seaward migration of the fish. The first two peaks of otolith Sr:Ca

de Chang *et al.* (2004b), donde los valores medios de la proporción de Sr:Ca entre  $3 \times 10^{-3}$  y  $7 \times 10^{-3}$  correspondieron a residentes de agua salobre, mientras que los valores por debajo y arriba de este intervalo correspondieron a residentes de agua dulce y agua marina, respectivamente. Aunque no se ha realizado un experimento de la relación entre la proporción de Sr:Ca en otolitos y la salinidad para especies de mugílidos en aguas mexicanas, consideramos que tal relación debería ser similar a la documentada para *M. cephalus* de Taiwán (Chang *et al.* 2004a, 2004b; Wang *et al.* 2010, 2011) y para otras especies catádromas como las anguilas americanas, europeas y japonesas (Daverat *et al.* 2006).

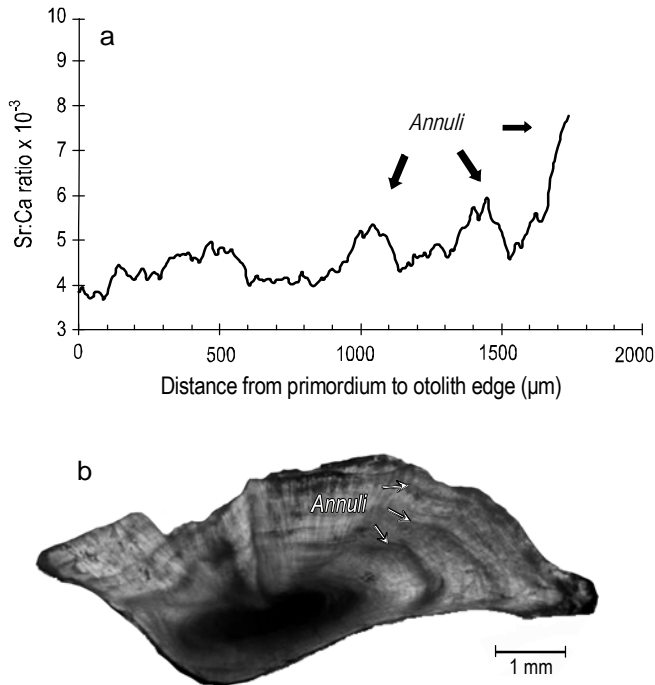
## RESULTADOS

### Migración estacional según los valores máximos de la proporción de Sr:Ca en relación con la marca de edad en los otolitos

El cambio cronológico de la proporción de Sr:Ca y las marcas de edad (bandas opacas) en los otolitos de ambos mugílidos, *M. cephalus* y *M. curema*, mostraron que los valores máximos de la proporción de Sr:Ca correspondieron al periodo en que se depositaron las marcas de edad (bandas opacas) (figs. 2a, b; 3a, b). Las marcas de edad en los otolitos generalmente se depositaron en el periodo de crecimiento lento del pez durante el invierno o el desove, y el valor máximo podría indicar su migración hacia el mar. Los primeros dos máximos de la proporción de Sr:Ca de los ejemplares de *M. cephalus* de tres años de edad fueron de  $5 \times 10^{-3}$  y  $6 \times 10^{-3}$  y el tercer máximo fue mayor que  $7 \times 10^{-3}$ . Esto indica que esta especie permaneció en agua salobre durante los primeros dos inviernos y migró a agua marina en el tercer invierno (fig. 2a, b). De forma similar, los individuos de *M. curema* de dos años de edad migraron a agua salobre en el primer invierno y a agua marina en el segundo (fig. 3a, b). El porcentaje de coincidencias en ocurrencia entre las marcas de edad y los valores máximos de la proporción de Sr:Ca fue mayor para *M. cephalus* (74.2%) y menor para *M. curema* (45%) (fig. 4a, b). Las edades estimadas mediante el número de bandas opacas y la frecuencia de las proporciones máximas de Sr:Ca no difirieron significativamente entre especies (*M. cephalus*:  $t(30) = -0.70$ ,  $P = 0.49$ ; *M. curema*:  $t(39) = 0.76$ ,  $P = 0.45$ ), lo que indica que las proporciones máximas en los otolitos se depositan anualmente y que la migración hacia y fuera de la costa es bastante regular.

### Diferencia entre especies de la selección de hábitat según la proporción de Sr:Ca en los otolitos

Las distribuciones de frecuencia con curva normal de la proporción de Sr:Ca en los otolitos (fig. 5) indicó que los ejemplares de *M. cephalus* de CaE provenían de un hábitat marino y los de TaL de aguas salobres, mientras que el único espécimen de TeE mostró un hábitat marino. Los ejemplares



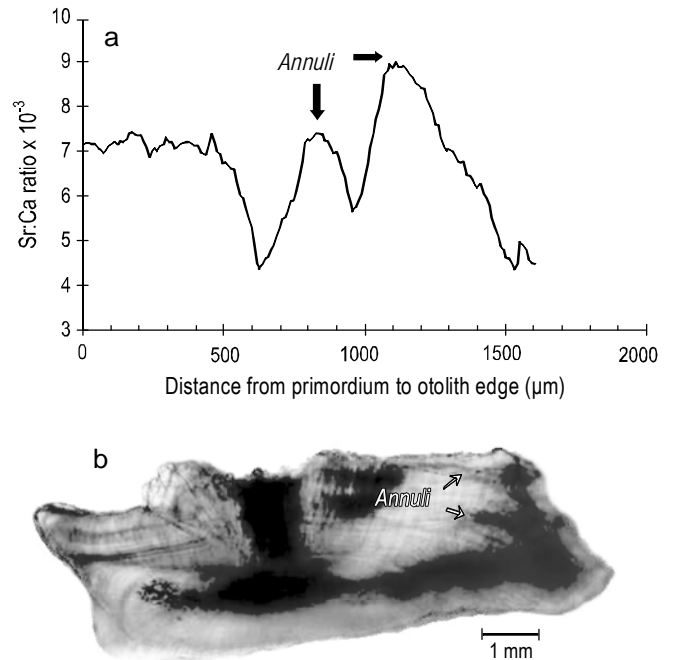
**Figure 2.** (a) Life history scan of Sr:Ca ratios from the primordium to the dorsal otolith edge ( $\mu\text{m}$ ) of a 3+ years of age, 338 mm TL, female *Mugil cephalus* from eastern Mexico. (b) Photograph showing the otolith annuli.

**Figura 2.** (a) Historia de vida de la proporción de Sr:Ca desde el primordio hasta el margen dorsal del otolito ( $\mu\text{m}$ ) de una hembra de *Mugil cephalus* de 3+ años de edad y 338 mm LT, del este de México. (b) Fotografía que muestra los anillos de crecimiento anual en el otolito.

ratios of three-year-old *M. cephalus* were  $5 \times 10^{-3}$  and  $6 \times 10^{-3}$  and the third peak was greater than  $7 \times 10^{-3}$ . This implies that the mullet remained in brackish water during the first two winters and migrated to offshore seawater in the third winter (fig. 2a, b). Similarly, the two-year-old *M. curema* migrated to brackish water in the first winter but to seawater in the second winter (fig. 3a, b). The percentage of coincidences in occurrence between age marks and peak Sr:Ca ratios was higher for *M. cephalus* (74.2%) and lower for *M. curema* (45%) (fig. 4a, b). Ages estimated by the number of opaque bands and by the frequency of peak Sr:Ca ratios did not differ significantly for either species (*M. cephalus*:  $t(30) = -0.70$ ,  $P = 0.49$ ; *M. curema*:  $t(39) = 0.76$ ,  $P = 0.45$ ), indicating that the peak Sr:Ca ratios in otoliths is deposited on an annual schedule and seasonal onshore and offshore migration of the mullet is rather regular.

#### Species-specific difference in habitat selection as indicated by otolith Sr:Ca ratios

The frequency distributions with normal curve of otolith Sr:Ca ratios (fig. 5) indicated that *M. cephalus* from CaE tended to be from a marine habitat and those from TaL from



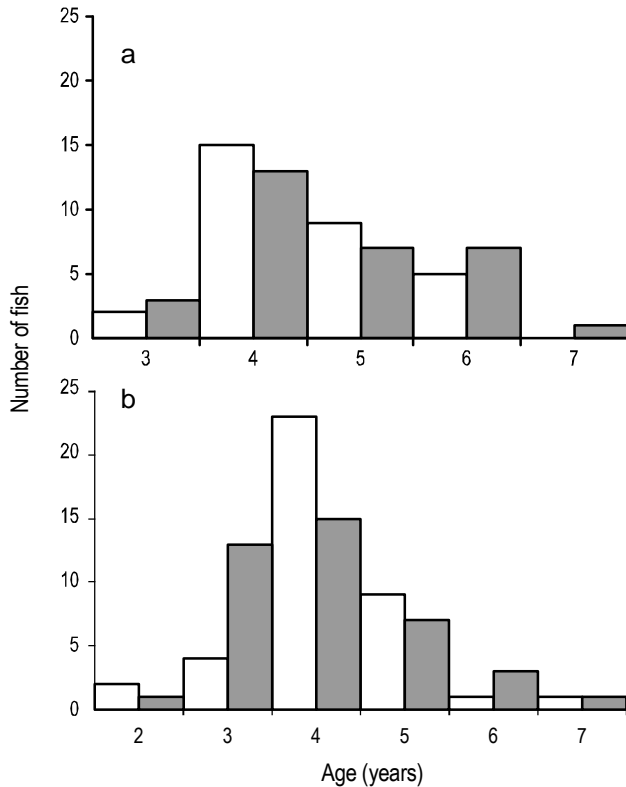
**Figure 3.** (a) Life history scan of Sr:Ca ratios from the primordium to the dorsal otolith edge ( $\mu\text{m}$ ) of a 2+ years of age, 255 mm TL, female *Mugil curema* from eastern Mexico. (b) Photograph showing the otolith annuli.

**Figura 3.** (a) Historia de vida de la proporción de Sr:Ca desde el primordio hasta el margen dorsal del otolito ( $\mu\text{m}$ ) de una hembra de *Mugil curema* de 2+ años de edad y 255 mm LT, del este de México. (b) Fotografía que muestra los anillos de crecimiento anual en el otolito.

de *M. curema* de TeE mostraron una mayor frecuencia de ocurrencia en aguas salobres, mientras que los de TaL y CaE mostraron mayor frecuencia de ocurrencia en aguas marinas. La mayoría de los individuos recolectados en los tres hábitats se clasificaron como residentes de agua marina y salobre independientemente de la época, y pocos fueron residentes de agua dulce. El porcentaje de residentes de agua marina y agua salobre difirió ligeramente entre especies, el porcentaje de residentes marinos de *M. cephalus* (59.3–88.5%) siendo mayor que el de *M. curema* (44.7–64.1%). Esto sugiere una diferencia en la selección de hábitat entre especies, la primera mostrando una tendencia a ser residentes de agua marina y la segunda, residentes de agua salobre. Los valores medios de la proporción de Sr:Ca en los otolitos difirieron significativamente entre especies ( $\chi^2_{(1)} = 294.4$ ,  $P \leq 0.0001$ ).

Para cada especie, los valores medios de la proporción de Sr:Ca en los otolitos difirieron significativamente entre sitios ( $\chi^2_{(2)} = 566.9$ ,  $P \leq 0.0001$ ) y entre meses de muestreo ( $\chi^2_{(1)} = 439.9$ ,  $P \leq 0.0001$ ), pero no entre grupos de edad ( $\chi^2_{(3)} = 1.6$ ,  $P = 0.645$ ). La proporción media de Sr:Ca para *M. cephalus* capturada en TaL fue  $6.3 \times 10^{-3}$ , constando de  $6.2 \times 10^{-3}$  en noviembre y  $6.5 \times 10^{-3}$  en marzo (tabla 2). En CaE, la proporción media de Sr:Ca en los otolitos de *M. cephalus* fue





**Figure 4.** Comparison of the frequency distributions of peak Sr:Ca ratios (white bars) and opaque marks (grey bars) by age for (a) *Mugil cephalus* ( $n = 31$ ) and (b) *M. curema* ( $n = 40$ ) from eastern Mexico.

**Figura 4.** Comparación de la distribución de frecuencia de los valores máximos de la proporción de Sr:Ca (barras blancas) y las marcas opacas (barras grises) por edad para (a) *Mugil cephalus* ( $n = 31$ ) y (b) *M. curema* ( $n = 40$ ) del este de México.

brackish waters, whereas the single specimen from TeE displayed a marine habitat. *Mugil curema* from TeE showed more frequent occurrence in brackish waters, while those from TaL and CaE showed more frequency of occurrence in a marine habitat. Most of the mullets collected from the three habitats consisted of seawater and brackish residents irrespective of season, with few freshwater residents. The percentage of seawater and brackish residents differed slightly between species, with the percentage of seawater resident *M. cephalus* (59.3–88.5%) greater than that of *M. curema* (44.7–64.1%). This suggests a difference in habitat selection between species, the former species tending to be seawater residents and the latter species brackish water residents. Mean otolith Sr:Ca ratios differed significantly between species ( $\chi^2_{(1)} = 294.4$ ,  $P \leq 0.0001$ ).

For each species, mean otolith Sr:Ca ratios differed significantly among locations ( $\chi^2_{(2)} = 566.9$ ,  $P \leq 0.0001$ ) and among sampling months ( $\chi^2_{(1)} = 439.9$ ,  $P \leq 0.0001$ ), but not among age groups ( $\chi^2_{(3)} = 1.6$ ,  $P = 0.645$ ). The mean otolith Sr:Ca ratio for *M. cephalus* was  $6.3 \times 10^{-3}$  in TaL, comprised

$7.5 \times 10^{-3}$ , mayor que en TaL, excluyendo TeE debido al tamaño de muestra pequeño (tabla 2). El gran valor medio de la proporción de Sr:Ca en los otolitos de *M. curema* capturada en TaL fue  $6.9 \times 10^{-3}$ , constando de una media de  $6.3 \times 10^{-3}$  en noviembre y de  $7.3 \times 10^{-3}$  en marzo, y fue  $6.3 \times 10^{-3}$  para CaE y  $5.6 \times 10^{-3}$  para TeE (tabla 2). Las proporciones de Sr:Ca de *M. cephalus* difirieron significativamente entre TaL y ambos estuarios pero no entre estuarios (tabla 3a). Los valores medios de la proporción de Sr:Ca de *M. curema* difirieron significativamente entre los tres sitios ( $\chi^2_{(2)} = 175.8$ ,  $P \leq 0.0001$ ), aunque no entre TaL y CaE (tabla 3b), pero no difirieron significativamente entre meses ( $\chi^2_{(1)} = 0.023$ ,  $P = 0.88$ ) o grupos de edad ( $\chi^2_{(3)} = 7.9$ ,  $P = 0.21$ ).

### Uso de hábitat en las etapas tempranas según la proporción de Sr:Ca en el núcleo del otolito

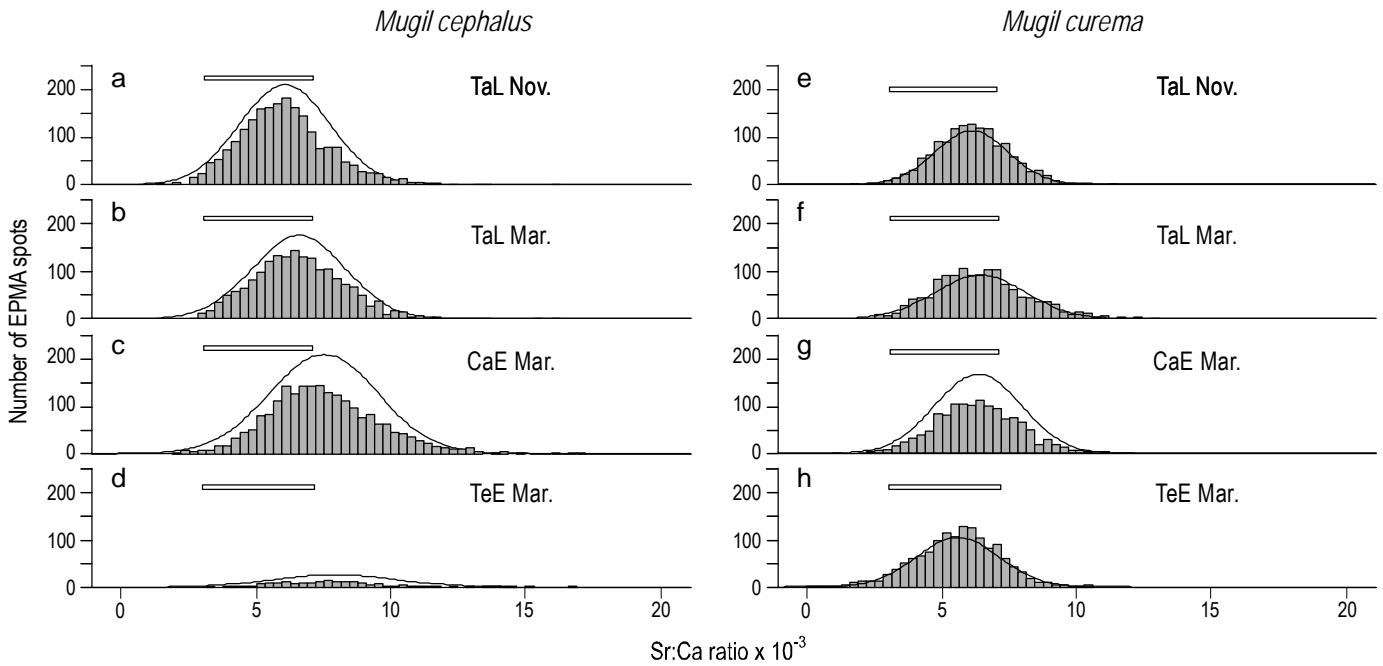
Los valores medios de la proporción de Sr:Ca en el núcleo del otolito no difirieron significativamente entre especies ( $F_{(1,63)} = 3.75$ ,  $P = 0.057$ ), meses ( $F_{(1,63)} = 0.34$ ,  $P = 0.56$ ) o sitios ( $F_{(2,63)} = 1.58$ ,  $P = 0.21$ ). Las interacciones entre especies y meses ( $F_{(1,63)} = 1.42$ ,  $P = 0.24$ ) y entre especies y sitios ( $F_{(2,63)} = 0.47$ ,  $P = 0.63$ ) tampoco fueron significativamente diferentes.

Si la proporción de Sr:Ca en el núcleo del otolito refleja la salinidad del hábitat durante el periodo de desove y la etapa larval, entonces 60% de los especímenes de *M. cephalus* recolectados en TaL en noviembre fueron eclosionados y criados en ambientes marinos y 60% de los recolectados en marzo fueron eclosionados y criados en agua salobre, mientras que los de CaE fueron eclosionados y criados igualmente en agua salobre y marina (fig. 6a, tabla 4). En cuanto a *M. curema*, 80% de los especímenes recolectados en TaL en noviembre y 70% en marzo, así como los de TeE, fueron eclosionados y criados en agua salobre, mientras que 60% de los de CaE fueron eclosionados y criados en agua de mar (fig. 6b, tabla 4).

### DISCUSIÓN

La proporción de Sr:Ca en los otolitos incrementó con el aumento de la salinidad ambiental (Tzeng 1996) y con el decremento de la tasa de crecimiento de los peces (Sadovy y Severin 1994). Se encontró que la proporción de Sr:Ca aumentó drásticamente en correspondencia con la deposición de las zonas opacas (anillos de crecimiento) en los otolitos de tanto *M. cephalus* como *M. curema*. El anillo de crecimiento anual en los otolitos de *M. cephalus* se depositó durante el periodo de crecimiento lento en invierno, durante la migración de desove de aguas costeras o estuarinas de baja salinidad a aguas marinas de alta salinidad. El periodo de bandas de crecimiento lento en los otolitos de *M. curema* fue más largo, de invierno a primavera (diciembre a mayo) (Ibáñez y Gallardo-Cabello 1996). Ambos mugílidos regresaron a





**Figure 5.** Frequency distribution with normal curves of otolith Sr:Ca ratios for *Mugil cephalus* and *M. curema* by month and location (TaL, Tamiahua Lagoon; CaE, Cazonos Estuary; TeE, Tecolutla Estuary);  $n = 10$  fish for each figure except for *M. cephalus* from TeE with one specimen. The horizontal bar at the top of each panel represents the brackish water zone.

**Figura 5.** Distribución de frecuencia con curvas normales de la proporción de Sr:Ca en los otolitos de *Mugil cephalus* y *M. curema* por mes y localidad (TaL, laguna de Tamiahua; CaE, estuario de Cazonos; TeE, estuario de Tecolutla);  $n = 10$  peces para cada figura excepto para *M. cephalus* de TeE con un espécimen. La barra horizontal arriba de cada panel representa la zona de agua salobre.

**Table 2.** Mean ( $\pm$ SD) Sr:Ca ratios ( $\times 10^{-3}$ ) in otoliths of *Mugil cephalus* and *M. curema* by sampling month and location;  $n$ , sample size.

**Tabla 2.** Valores medios ( $\pm$ DE) de la proporción de Sr:Ca ( $\times 10^{-3}$ ) en los otolitos de *Mugil cephalus* y *M. curema* por mes y sitio de muestreo;  $n$ , tamaño de muestra.

Species	Tamiahua Lagoon				Cazonos Estuary		Tecolutla Estuary	
	November	$n$	March	$n$	March	$n$	March	$n$
<i>Mugil cephalus</i>	$6.2 \pm 1.7$	10	$6.5 \pm 1.6$	10	$7.5 \pm 2.1$	10	$7.9 \pm 2.4$	1
<i>Mugil curema</i>	$6.3 \pm 1.5$	10	$7.3 \pm 1.9$	10	$6.3 \pm 1.6$	10	$5.6 \pm 1.5$	10

of  $6.2 \times 10^{-3}$  in November and  $6.5 \times 10^{-3}$  in March (table 2). In CaE, the mean Sr:Ca ratio in the otoliths of *M. cephalus* was  $7.5 \times 10^{-3}$ , higher than TaL, excluding TeE due to low sample size (table 2). The grand mean otolith Sr:Ca ratio for *M. curema* caught in TaL was  $6.9 \times 10^{-3}$ , comprised of a mean of  $6.3 \times 10^{-3}$  in November and  $7.3 \times 10^{-3}$  in March, and it was  $6.3 \times 10^{-3}$  for CaE and  $5.6 \times 10^{-3}$  for TeE (table 2). Otolith Sr:Ca ratios of *M. cephalus* differed significantly between TaL and both estuaries but not between estuaries (table 3a). Mean otolith Sr:Ca ratios of *M. curema* differed significantly among all three locations ( $\chi^2_{(2)} = 175.8$ ,  $P \leq 0.0001$ ), though not between TaL and CaE (table 3b), but did not differ significantly between months ( $\chi^2_{(1)} = 0.023$ ,  $P = 0.88$ ) or age groups ( $\chi^2_{(3)} = 7.9$ ,  $P = 0.21$ ).

TaL en la etapa VI (etapa de posdesove) y se observaron evidentemente exhaustos y delgados (Ibáñez y Gallardo-Cabello 2004). Esto validó que se depositó una marca anual en los otolitos durante el periodo de crecimiento somático reducido durante la migración de desove, cuando se utilizó la energía metabólica para la reproducción, y proporciona un método alternativo para la validación de la edad. La edad de primera madurez es tres años y un año para *M. cephalus* y *M. curema*, respectivamente. Por lo tanto, los valores máximos de la proporción de Sr:Ca que aparecen antes de la edad de primera madurez podrían indicar una migración al mar en invierno de los mugilidos.

El análisis de vida de la proporción de Sr:Cr en los otolitos indicó que tanto *M. cephalus* como *M. curema*

**Table 3.** Mann-Whitney nonparametric test for the comparison of mean otolith Sr:Ca ratios ( $\times 10^{-3}$ ) between locations (TaL, Tamiahua Lagoon; CaE, Cazonos Estuary; TeE, Tecolutla Estuary) and by species. Z, test statistic; P, probability value of the statistic.

**Tabla 3.** Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para la comparación de los valores medios de la proporción de Sr:Ca ( $\times 10^{-3}$ ) entre sitios (TaL, laguna de Tamiahua; CaE, estuario de Cazonos; TeE, estuario de Tecolutla) y por especie. Z, estadístico de prueba; P, valor de la probabilidad del estadístico.

(a) <i>Mugil cephalus</i>				
	TaL		CaE	
	Z	P	Z	P
TaL	-	-	-	-
CaE	-22.723	$\leq 0.0001$	-	-
TeE	-9.878	$\leq 0.0001$	-1.848	$\leq 0.065$

(b) <i>Mugil curema</i>				
	TaL		CaE	
	Z	P	Z	P
TaL	-	-	-	-
CaE	-1.803	$\leq 0.071$	-	-
TeE	-11.854	$\leq 0.0001$	-11.657	$\leq 0.0001$

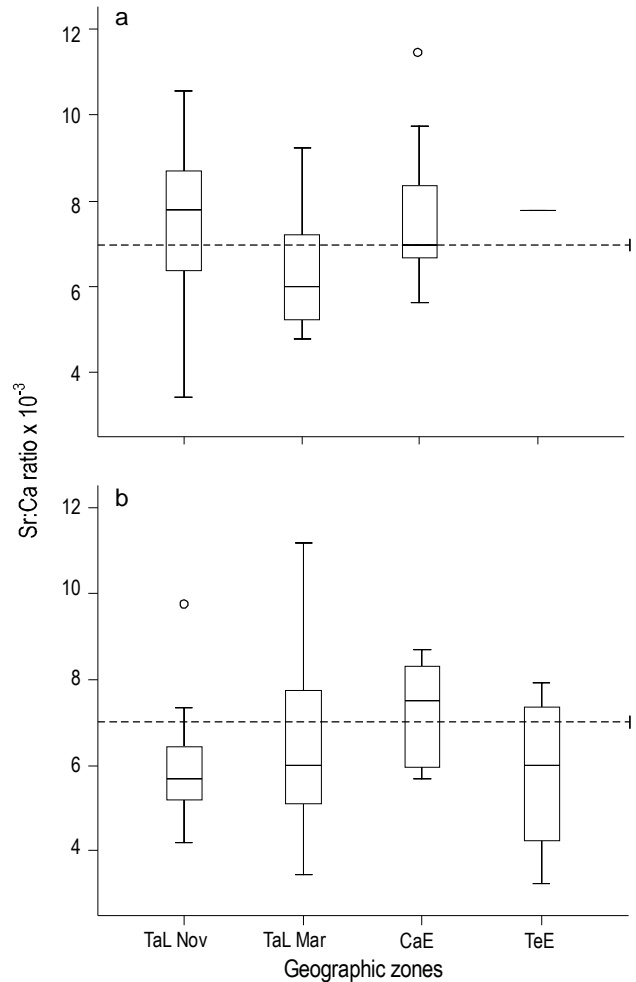
**Habitat use at early stages as indicated by Sr:Ca ratios in the otolith core**

Mean Sr:Ca ratios in the otolith core did not differ significantly between species ( $F_{(1, 63)} = 3.75, P = 0.057$ ), months ( $F_{(1, 63)} = 0.34, P = 0.56$ ), or locations ( $F_{(2, 63)} = 1.58, P = 0.21$ ). Interactions between species and months ( $F_{(1, 63)} = 1.42, P = 0.24$ ) and between species and locations ( $F_{(2, 63)} = 0.47, P = 0.63$ ) were also not significantly different.

If the Sr:Ca ratios in the core region of the otolith reflect the habitat's salinity at spawning and the larval stage of the mullet, then 60% of *M. cephalus* collected from TaL in November were hatched and nursed in seawater and 60% of *M. cephalus* caught in March were hatched and nursed in brackish water, while those from CaE were hatched and nursed equally in brackish and seawater (fig. 6a, table 4). For *M. curema*, 80% from TaL in November and 70% in March were hatched and nursed in brackish water, as were those from TeE, while 60% from CaE were hatched and nursed in seawater (fig. 6b, table 4).

**DISCUSSION**

The Sr:Ca ratios in fish otoliths increased with the increase in ambient salinity (Tzeng 1996) and with the decrease of fish growth rate (Sadovy and Severin 1994). We found that Sr:Ca ratios drastically increased in correspondence with the deposition of opaque zones (annuli) in the



**Figure 6.** Boxplot of Sr:Ca ratios at the otolith core for (a) *Mugil cephalus* and (b) *M. curema* collected from Tamiahua lagoon (TaL) in November and March, and from Cazonos Estuary (CaE) and Tecolutla Estuary (TeE);  $n = 10$  fish for each boxplot except for *M. cephalus* from TeE with only one specimen. The box about the median encompasses the mid-range. Quartiles are marked by whiskers and extreme values are represented by circles. The dashed line marks Sr:Ca ratios at  $7 \times 10^{-3}$ , the upper limit of the brackish water habitat range.

**Figura 6.** Diagrama de cajas de la proporción de Sr:Ca en el núcleo de los otolitos de (a) *Mugil cephalus* y (b) *M. curema* capturados en la laguna de Tamiahua (TaL) en noviembre y marzo, y en los estuarios de Cazonos (CaE) y Tecolutla (TeE);  $n = 10$  peces para cada gráfica excepto en el caso de *M. cephalus* de TeE con sólo un espécimen. La caja alrededor de la mediana indica el intervalo medio. Los cuartiles se indican con líneas verticales y los valores extremos con círculos. La línea horizontal quebrada indica la proporción de Sr:Ca a  $7 \times 10^{-3}$ , el límite superior del intervalo del hábitat de agua salobre.

permanecen la mayor parte de sus vidas en aguas salobres de salinidad variable y un periodo de tiempo más corto en aguas marinas durante su migración de la costa al mar para desovar. Los valores máximos de la proporción de Sr:Ca, indicativos de alta salinidad, proporcionan evidencia de una migración

**Table 4.** Percentage of specimens with brackish (Sr:Ca ratio values below  $7 \times 10^{-3}$ ) or seawater profile (Sr:Ca ratio values above  $7 \times 10^{-3}$ ) at the core of the otolith by location and month. \* Data not available; only one specimen was obtained.

**Tabla 4.** Porcentaje de especímenes con perfil de agua salobre (valores de la proporción de Sr:Ca por debajo de  $7 \times 10^{-3}$ ) o agua marina (valores por arriba de  $7 \times 10^{-3}$ ) en el núcleo del otolito por sitio y mes de muestreo. \* Datos no disponibles; sólo se obtuvo un espécimen.

Species	Tamiahua Lagoon				Cazones Estuary		Tecolutla Estuary	
	November		March		March		March	
	Brackish	Seawater	Brackish	Seawater	Brackish	Seawater	Brackish	Seawater
<i>Mugil cephalus</i>	40	60	60	40	50	50	*	*
<i>Mugil curema</i>	80	20	70	30	40	60	70	30

otoliths of both *M. cephalus* and *M. curema*. The annulus in otoliths of *M. cephalus* was deposited in the winter slow-growth season during the offshore spawning migration from low salinity estuarine or coastal waters to high salinity waters. For *M. curema*, the period of slow growth bands in the otoliths was longer, from winter to spring (December to May) (Ibáñez and Gallardo-Cabello 1996). Both species of mullet returned to TaL in stage VI (post-spawning) condition and looked evidently exhausted and slender (Ibáñez and Gallardo-Cabello 2004). This validated that an annual mark in mullet otoliths was deposited during the reduced somatic growth period during the spawning migration, when metabolic energy was used for fish reproduction, and provides an alternative age validation method. The age at first maturity is three and one years old for *M. cephalus* and *M. curema*, respectively. Accordingly, the peak Sr:Ca ratios appearing before the age at first maturity might indicate a seaward wintering migration of the mullet.

The life scan of otolith Sr:Ca ratios indicated that both *M. cephalus* and *M. curema* spend most of their lifetime in brackish waters of variable salinity, with a smaller period of time in seawater during their spawning migration from coastal to offshore waters. Periodic peaks in otolith Sr:Ca ratios to values indicative of high salinity provide evidence of seaward migration. Alternatively, the peak otolith Sr:Ca ratios could be due to the entrance of high salinity seawater from offshore to coastal feeding areas or to high salinity in the estuary resulting from reduced freshwater discharge during the dry season, if the mullets do not migrate between the estuary and offshore. However, no studies have yet shown that the mullet does not move offshore to spawn, although some climate variables were reported to be related to spawning migrations in the Gulf of Mexico (Ibáñez and Gutiérrez-Benítez 2004). The roe of *M. cephalus* and *M. curema* is of economic importance (Ibáñez and Gallardo-Cabello 2004) and constitutes an important fishery inside the lagoons and estuaries along the northwestern Gulf of Mexico (*Diario Oficial de la Federación*, 25 de agosto de 2006). This suggests that fish remain in the lagoon or in estuarine areas where their euryhaline behavior enables them to look for the best environment for survival, growth, and reproductive success.

mar adentro; alternatively, éstos podrían atribuirse a la entrada de agua marina de alta salinidad a las zonas de alimentación costeras o a la alta salinidad en el estuario como resultado de la disminución en la descarga de agua dulce durante la época de secas si los mugílidos no migran entre el estuario y el mar abierto. Sin embargo, ningún estudio ha mostrado que los mugílidos no migran al mar para desovar, aunque se han relacionado algunas variables climáticas con las migraciones de desove en el golfo de México (Ibáñez y Gutiérrez-Benítez 2004). La hueva de *M. cephalus* y *M. curema* es de importancia económica (Ibáñez y Gallardo-Cabello 2004) y constituye una pesquería importante en las lagunas y estuarios de la costa noroccidental del golfo de México (*Diario Oficial de la Federación*, 25 de agosto de 2006). Esto sugiere que los mugílidos permanecen en zonas lagunares o estuarinas donde su comportamiento eurihalino les permite buscar el mejor ambiente para sobrevivir, crecer y reproducir.

Nuestros resultados muestran que los mugílidos no actúan como peces catádromos, pasando la mayor parte de sus vidas en agua dulce antes de migrar al mar para desovar, como afirman De Silva (1980) y Torricelli *et al.* (1982). Son peces eurihalinos posiblemente porque su productividad es mayor en los estuarios que mar adentro y pueden tolerar una amplia gama de salinidades. Por lo tanto, el diferente comportamiento migratorio de los mugílidos podría ser básicamente un resultado de su intento de encontrar la mejor aptitud evolutiva para alimentarse (Gross 1987).

Por otro lado, la proporción de Sr:Ca en el núcleo de los otolitos varió ampliamente de  $3.2 \times 10^{-3}$  a  $11.4 \times 10^{-3}$ , con una media de  $6.7 \times 10^{-3} \pm 1.8 \times 10^{-3}$  y una mediana a  $6.6 \times 10^{-3}$ . Esto podría indicar que el desove se realizó en aguas salobres o marinas. Este comportamiento es similar al de *M. cephalus* de Taiwán (Hsu 2009; Wang *et al.* 2010, 2011), pero difiere a lo observado en varios estudios que indican que *M. cephalus* desova en aguas marinas de alta salinidad y que las crías se dispersan del mar al estuario (Tung 1981, Chang *et al.* 2000). La distribución larval de mugílidos tanto en el golfo de México (Ditty y Shaw 1996, Flores-Coto *et al.* 2009) como en las costas de Carolina del Norte y Florida (Powles 1981) es nerítica, lo que proporciona

Results in this study show that mullet do not behave as catadromous fish spending most of their life in freshwater before migrating offshore for spawning, as maintained by De Silva (1980) and Torricelli *et al.* (1982). They are euryhaline fish possibly because productivity is higher in estuaries than offshore and they can tolerate a wide range of salinity. As a result, the different migratory behavior of the mullets might be basically a result of their attempt to seek the most evolutionary fitness for foraging (Gross 1987).

On the other hand, the range of Sr:Ca ratios in the otolith core of these two species was widely distributed from  $3.2 \times 10^{-3}$  to  $11.4 \times 10^{-3}$ , with a mean of  $6.7 \times 10^{-3} \pm 1.8 \times 10^{-3}$  and a median at  $6.6 \times 10^{-3}$ . This may indicate that spawning may occur in brackish or marine waters. This behavior is similar to that of *M. cephalus* from Taiwan (Hsu 2009; Wang *et al.* 2010, 2011) but differs from that reported in previous studies indicating that *M. cephalus* spawned in high salinity, offshore waters and the fry dispersed from the offshore to the estuary (Tung 1981, Chang *et al.* 2000). The larval distribution of mullets in both the Gulf of Mexico (Ditty and Shaw 1996, Flores-Coto *et al.* 2009) and along the Atlantic coast of North Carolina and Florida (Powles 1981) is neritic, which provides evidence of mullet spawning in low salinity waters in offshore stratification areas, close to the river mouths or in lagoons. Arnold and Thompson (1958) reported that *M. cephalus* spawns in offshore waters of the Gulf of Mexico at depths of 40–1650 m beyond the continental shelf 50–100 km off the coast. In addition, the difference in mullet otolith Sr:Ca ratios between habitats might reflect the difference in salinity where salinity was higher in the lagoon than in the estuaries, even during seasonal changes in salinity between the dry and rainy seasons. The wide range of salinity, depth, and distance from the coast inhabited by mullets could explain the variation in the otolith Sr:Ca ratios. Also, it is possible that spawning and egg development may occur in offshore waters and that onshore currents/winds carry the fertilized eggs into onshore waters where salinities are lower. In this sense, larvae could start their development in a different place to where the spawning had occurred and their otoliths would reflect the inshore rather than offshore salinity regime.

*Mugil cephalus* and *M. curema* are sympatric congener species because they inhabit the same or overlapping geographic areas, enabling collection from the same sampling sites as in this study. However, the differences in otolith Sr:Ca ratios and the time delay of three months for the spawning period of these species in the northwestern Gulf of Mexico (Ibáñez 1993) indicate that habitat use on spatial and temporal scales might differ between these two congener species. Differences in habitat use in time and space can reduce the interspecific competition for food and space. Spawning time lag differentiates fish otolith chemistry by exposure to multiple and diverse environmental variables (Elsdon and Gillanders 2004). In other words, these two mullet species apparently inhabit the same estuaries and coastal lagoons but they are separated somewhat because of a difference in

evidencia de que los mugílidos desovan en aguas de poca salinidad en zonas marinas, cerca de las bocas de ríos o en lagunas. Arnold y Thompson (1958) mencionan que *M. cephalus* desova en aguas marinas del golfo de México a profundidades entre 40 y 1650 m, más allá de la plataforma continental a unos 50–100 km de la costa. Además, la diferencia de la proporción de Sr:Ca en los otolitos entre hábitats podría reflejar la diferencia en salinidad cuando la salinidad es mayor en la laguna que en los estuarios, aun durante los cambios estacionales de salinidad entre las épocas de lluvias y secas. La amplia gama de salinidad, profundidad y distancia de la costa en que se encuentran los mugílidos podría explicar la variación de la proporción de Sr:Ca en los otolitos. Asimismo, es posible que los mugílidos desoven en ambientes marinos y que los huveos fertilizados sean transportados por corrientes/vientos a aguas costeras de menor salinidad. De esta forma, las larvas podrían iniciar su desarrollo en un lugar diferente a donde se realizó el desove y sus otolitos reflejarían el régimen de salinidad costero más que el marino.

*Mugil cephalus* y *M. curema* son especies congéneres y simpátricas ya que ocupan la misma zona geográfica, lo que permite recolectar ejemplares del mismo sitio de muestreo, como en este estudio; sin embargo, la diferencia en la proporción de Sr:Ca en los otolitos y el desfase de tres meses en el periodo de desove de estas especies en la parte noroccidental del golfo de México (Ibáñez 1993) indica que el uso del hábitat a escalas espaciales y temporales puede diferir entre estas dos especies congéneres. Diferencias en el uso del hábitat en el tiempo y espacio puede reducir la competencia interespecífica por la comida y el espacio. El desfaseamiento en el tiempo de desove distingue la química de los otolitos debido a la exposición a múltiples y diversas variables ambientales (Elsdon y Gillanders 2004). En otras palabras, estos dos mugílidos aparentemente habitan los mismos estuarios y lagunas costeras pero están algo separadas por la diferencia en el uso del hábitat en el tiempo y espacio y por el aislamiento reproductivo. Las diferencias en la proporción de Sr:Ca se pueden explicar de forma similar y por esta razón se ha utilizado la química de los otolitos para la evaluación de poblaciones ícticas y la discriminación de localidades (Patterson *et al.* 1999, Berg *et al.* 2005, Husebø *et al.* 2005, Clarke *et al.* 2009). Wang *et al.* (2010) encontraron dos ecotipos de juveniles de *M. cephalus* habitando diversos ambientes del río Tanshui en el norte de Taiwán. Se observó un fenómeno similar para *M. cephalus* en TaL, donde los ejemplares capturados en noviembre eclosionaron en agua marina mientras que los capturados en marzo eclosionaron en agua salobre. Esto indica que diferentes especies de mugílidos y sus contingentes migratorios pueden habitar el mismo hábitat pero que tienen diferentes hábitats migratorios durante el desove. No obstante, se requiere mayor investigación para entender si existen diferentes poblaciones de cada especie de mugílido en aguas mexicanas y la conectividad entre las poblaciones.

habitat use in time and space and by reproductive isolation. Differences in otolith Sr:Ca ratios of the mullet among locations can be similarly explained, which is why otolith chemistry has been widely used as a proxy for stock assessment and location discrimination (Patterson *et al.* 1999, Berg *et al.* 2005, Husebø *et al.* 2005, Clarke *et al.* 2009). Wang *et al.* (2010) found two ecotypes of juvenile *M. cephalus* residing in diverse environments of the Tanshui River, northern Taiwan. A similar phenomenon was also observed for *M. cephalus* from TaL, where those caught in November were hatched in seawater while those caught in March were hatched in brackish water. This indicates that different mullet species and their migratory contingents may inhabit the same habitat in the feeding period but have separate migration habitats during spawning. However, more research is needed to understand if there are different populations for each of the mullet species in Mexican waters and the connectivity among populations.

## CONCLUSIONS

Otolith microchemistry indicated that both *M. cephalus* and *M. curema* spend most of their life in brackish waters of variable salinity, with a minor period in seawater. The Sr:Ca ratios at the core region of the otolith indicated that both mullet species could spawn in both brackish and marine waters. Deposition of annuli was coincident with the peak of otolith Sr:Ca ratios when mullets spawn annually and validates the age determinations. The variability of migratory patterns between mullet species indicated that their migratory behavior appears to be more facultative than straightforwardly catadromous.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The study was partially supported by the National Science Council of Taiwan (NSC95-2915-I-002-108 awarded to WNT, NSC97-2116-M-001-008 to YI, and NSC98-2621-B-006-001 to CHW and CWC) and by the Autonomous Metropolitan University (Mexico). The authors thank NT Yeh for assistance in the laboratory and B Jessop for helpful comments that improved this and previous versions of the manuscript.

## REFERENCES

- Alaves Y. 1978. Contribución al conocimiento de la biología de *Palaemonetes intermedius* Holthuis (Crustacea: Decapoda) en la laguna de Tamiahua, Veracruz. BSc dissertation, Universidad Veracruzana, Xalapa, México.
- Alvarez-Lajonchere LS. 1976. Contribución al ciclo de vida de *Mugil curema* Valenciennes in Cuvier et Valenciennes, 1836 (Pisces, Mugilidae). Rev. Invest. Mar. 28: 1–130.
- Anderson WW. 1958. Larval development, growth and spawning of striped mullet (*Mugil cephalus*) along the South Atlantic coast of the United States. Fish. Bull. 58: 500–519.

## CONCLUSIONES

La microquímica de los otolitos mostró que tanto *M. cephalus* como *M. curema* permanecen la mayor parte de sus vidas en aguas salobres de salinidad variable y que pasan un periodo corto en aguas marinas. La proporción de Sr:Ca en el núcleo del otolito indicó que ambas especies de mugílidos pueden desovar en aguas salobres y marinas. Los valores máximos de la proporción de Sr:Ca coincidieron con la depositación del anillo de crecimiento anual, lo que valida la determinación de la edad. La variabilidad de los patrones migratorios entre especies indicó que su comportamiento migratorio parece ser más facultativo que simplemente catádromo.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente apoyado por el Consejo Nacional de Ciencias de Taiwán (NSC95-2915-I-002-108 a WNT, NSC97-2116-M-001-008 a YI, y NSC98-2621-B-006-001 a CHW y CWC) y por la Universidad Autónoma Metropolitana (México). Los autores agradecen a NT Yeh su asistencia en el laboratorio y a B Jessop sus comentarios valiosos que ayudaron a mejorar el manuscrito.

Traducido al español por Christine Harris.

- Arnold EL Jr., Thompson JR. 1958. Offshore spawning of the striped mullet, *Mugil cephalus*, in the Gulf of Mexico. Copeia 158: 130–132.
- Berg E, Sarvas TH, Harbitz A, Fevolden SE, Salberg AB. 2005. Accuracy and precision in stock separation of northeast Arctic and Norwegian coastal cod by otoliths – comparing readings, image analyses and a genetic method. Mar. Freshwat. Res. 56: 753–762, doi:10.1071/MF04172.
- Bonner T. 2007. Identification and information for Texas fish. Available at: <http://www.bio.txstate.edu/~tbonner/txfishes/mugil%20curema.htm> (accessed 3 November 2010).
- Camacho-Barrera M, Cisneros JL, Cosío P. 1983. Estudio de la comunidad zooplanctónica de la laguna de Tamiahua, Veracruz. BSc dissertation, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Campana SE. 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: Pathways, mechanisms and applications. Mar. Ecol. Prog. Ser. 188: 263–297.
- Chang CW, Tzeng WN, Lee YC. 2000. Recruitment and hatching dates of grey mullet (*Mugil cephalus* L.) juveniles in the Tanshui estuary of northwest Taiwan. Zool. Stud. 39: 99–106.
- Chang CW, Iizuka Y, Tzeng WN. 2004a. Migratory environmental history of the grey mullet *Mugil cephalus* as revealed by otolith Sr:Ca ratios. Mar. Ecol. Prog. Ser. 269: 277–288.
- Chang CW, Lin SH, Iizuka Y, Tzeng WN. 2004b. Relationship between Sr:Ca ratios in otoliths of grey mullet *Mugil cephalus* and ambient salinity: Validation, mechanisms, and applications. Zool. Stud. 43: 74–85.
- Clarke LM, Walther BD, Munch SB, Thorrold SR, Conover DO. 2009. Chemical signatures in the otoliths of a coastal marine fish, *Menidia menidia*, from the northeastern United States: Spatial and temporal difference. Mar. Ecol. Prog. Ser. 384: 261–271.



- Daverat F, Limburg KE, Thibault I, Shiao JC, Dodson JJ, Caron F, Tzeng WN, Iizuka Y, Wickström H. 2006. Phenotypic plasticity of habitat use by three temperate eel species *Anguilla anguilla*, *A. japonica* and *A. rostrata*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 308: 231–241.
- Degens ET, Deuser WG, Haedrich RL. 1969. Molecular structure and composition of fish otoliths. Mar. Biol. 2: 105–113.
- Delon CA. 1984. Variación estacional del plancton en los esteros Boca de Lima y Lagartos, Municipio de Tecolutla, Veracruz. BSc dissertation, Universidad Veracruzana, Xalapa, México.
- De Silva SS. 1980. Biology of juvenile grey mullet: A short review. Aquaculture 19: 21–36.
- De Silva SS, Silva EIL. 1979. Biology of young grey mullet, *Mugil cephalus* L., populations in a coastal lagoon in Sri Lanka. J. Fish Biol. 15: 9–20.
- Díaz-Pardo E, Hernández-Vázquez S. 1980. Crecimiento, reproducción y hábitos alimenticios de la lisa *Mugil cephalus* en la Laguna de San Andrés, Tamps. An. Esc. Nac. Cienc. Biol. 23: 109–127.
- Ditty JG, Shaw RF. 1996. Spatial and temporal distribution of larval striped mullet (*Mugil cephalus*) and white mullet (*M. curema*, family Mugilidae) in the northern Gulf of Mexico, with notes on mountain mullet, *Agonostomus monticola*. Bull. Mar. Sci. 59: 271–288.
- Elsdon TS, Gillanders BM. 2004. Fish otolith chemistry influenced by exposure to multiple environmental variables. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 313: 269–284.
- Elsdon TS, Gillanders BM. 2006. Identifying migratory contingents of fish by combining otolith Sr:Ca with temporal collections of ambient Sr:Ca concentrations. J. Fish Biol. 69: 643–657.
- FAO. 2009. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Mugil cephalus*. Cultured Aquatic Species Fact Sheets. Text by Saleh MA. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department (online). Rome. Updated 7 April 2006 (accessed 8 December 2009), [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mugil\\_cephalus/es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mugil_cephalus/es).
- Finucane JH, Collins LA, Barger LE. 1978. Spawning of the striped mullet, *Mugil cephalus*, in the northwestern Gulf of Mexico. Northeast Gulf Sci. 2: 148–150.
- Flores-Coto C, Espinosa-Fuentes ML, Zavala-García F, Sanvicente-Añorve L. 2009. Ichthyoplankton of the southern Gulf of Mexico. A compendium. Hidrobiologica 19: 49–76.
- Gross M. 1987. The evolution of diadromy in fishes. Am. Fish. Soc. Symp. 1: 14–25.
- Hsu CC. 2009. Use of natural markers to study population structure and migratory environmental history of *Mugil cephalus* L. in the coastal waters of Taiwan. PhD thesis, National Taiwan University.
- Hsu CC, Tzeng WN. 2009. Validation of annular deposition in scales and otoliths of flathead mullet *Mugil cephalus*. Zool. Stud. 48: 640–648.
- Husebø Å, Slotte A, Clausen LAW, Mosegaard H. 2005. Mixing of populations or year class twinning in Norwegian spring spawning herring? Mar. Freshwat. Res. 56: 763–772, doi:10.1071/MF04170.
- Ibáñez AL. 1993. Coexistence of *Mugil cephalus* and *M. curema* in a coastal lagoon in the Gulf of Mexico. J. Fish Biol. 42: 959–961.
- Ibáñez AL, Gallardo-Cabello M. 1996. Age determination of the grey mullet *Mugil cephalus* L. and the white mullet *M. curema* V. (Pisces: Mugilidae) in Tamiahua Lagoon, Veracruz. Cienc. Mar. 22: 329–345.
- Ibáñez AL, Gallardo-Cabello M. 2004. Reproduction of *Mugil cephalus* and *M. curema* (Pisces: Mugilidae) from a coastal lagoon to the northwest of the Gulf of Mexico. Bull. Mar. Sci. 75: 37–49.
- Ibáñez AL, Gutiérrez-Benítez O. 2004. Climate variables and spawning migrations of the striped mullet and white mullet in the northwestern area of the Gulf of Mexico. J. Fish Biol. 65: 822–831.
- Jessop BM, Shiao JC, Iizuka Y, Tzeng WN. 2002. Migratory behaviour and habitat use by American eels *Anguilla rostrata* as revealed by otolith microchemistry. Mar. Ecol. Prog. Ser. 233: 217–229.
- Moore RH. 1974. General ecology, distribution and relative abundance of *Mugil cephalus* and *Mugil curema* on the south Texas coast. Contrib. Mar. Sci. 18: 241–245.
- Nirchio M, Cipriano R, Cestari M, Fenocchio A. 2005. Cytogenetical and morphological features reveal significant differences among Venezuelan and Brazilian samples of *Mugil curema*. Neotrop. Ichthyol. 3: 107–110.
- Pannella G. 1971. Fish otolith: Daily growth layers and periodical patterns. Science 173: 1124–1127.
- Patterson HM, Thorrold SR, Shenker JM. 1999. Analysis of otolith chemistry in Nassau grouper (*Epinephelus striatus*) from the Bahamas and Belize using solution-based ICP-MS. Coral Reefs 18: 171–178.
- Powles H. 1981. Distribution and movements of neustonic young of estuarine dependent (*Mugil* spp., *Pomatomus saltatrix*) and estuarine independent (*Coryphaena* spp.) fishes off the southeastern United States. Rapp. P-V Reun. Cons. Int Explor. Mer 178: 207–209.
- Render JH, Thompson BA, Allen RL. 1995. Reproductive development of striped mullet in Louisiana estuarine waters with notes on the applicability of reproductive assessment methods for isochronal species. Trans. Am. Fish. Soc. 124: 26–36.
- Sadovy Y, Severin KP. 1994. Elemental patterns in red hind (*Epinephelus guttatus*) otoliths from Bermuda and Puerto Rico reflect growth rate, not temperature. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 51: 133–141.
- SAGARPA. 2009. Anuario Estadístico Pesquero. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, México. Available at [http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona\\_produccion\\_pesquera\\_y\\_acuicola\\_2005](http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona_produccion_pesquera_y_acuicola_2005).
- Secor DH. 1992. Application of otolith microchemistry analysis to investigate anadromy in Chesapeake Bay striped bass *Morone saxatilis*. Fish. Bull. 90: 798–80.
- Secor DH, Piccoli PM. 1996. Age- and sex-dependent migrations of striped bass in the Hudson River as determined by chemical microanalysis of otoliths. Estuaries 19: 778–793.
- Secor DH, Henderson-Arzapalo A, Piccoli PM. 1995. Can otolith microchemistry chart patterns of migration and habitat utilization in anadromous fishes? J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 192: 15–33.
- Secor DH, Ota T, Tanaka M. 1998. Use of otolith microanalysis to determine estuarine migrations of Ariake Sea Japanese sea bass *Lateolabrax japonicus*. Fish. Sci. 64: 740–743.
- Toricelli P, Tongiorgi P, Almansi P. 1982. Migration of grey mullet fry into the Arno River: Seasonal appearance, daily activity and feeding rhythms. Fish. Res. 1: 219–234.
- Tukey JW. 1977. Exploratory Data Analysis. Addison-Wesley, Reading, MA, 688 pp.
- Tung IH. 1981. On the fishery biology of gray mullet, *Mugil cephalus* L., in Taiwan. Report of the Institute of Fishery Biology of the Ministry of Economic Affairs and National Taiwan University 3: 38–102.
- Tzeng WN. 1996. Effects of salinity and ontogenetic movements on strontium:calcium ratios in the otoliths of the Japanese eel, *Anguilla japonica* Temminck and Schlegel. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 199: 111–122.



- Tzeng WN, Severin KP, Wickström H. 1997. Use of otolith micro-chemistry to investigate the environmental history of European eel *Anguilla anguilla*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 149: 73–81.
- Tzeng WN, Shiao JC, Iizuka Y. 2002. Use of otolith Sr:Ca ratios to study the riverine migratory behaviours of Japanese eel *Anguilla japonica*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 245: 213–221.
- Tzeng WN, Iizuka Y, Shiao JC, Yamada Y, Oka HP. 2003. Identification and growth rates comparison of divergent migratory contingents of Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Aquaculture* 216: 77–86.
- Wang CH, Hsu CC, Chang CW, You CF, Tzeng WN. 2010. The migratory environmental history of freshwater resident flathead mullet *Mugil cephalus* L. in the Tanshui River, northern Taiwan. *Zool. Stud.* 49: 504–514.
- Wang CH, Hsu CC, Tzeng WN, You CF, Chang CW. 2011. Origin of the mass mortal flathead grey mullet (*Mugil cephalus*) in Tanshui River, northern Taiwan, as indicated by otolith elemental signature. *Mar. Pollut. Bull.* 62: 1809–1813.
- Zimmerman CE. 2005. Relationship of otolith strontium-to-calcium ratios to salinity: Experimental variation for juvenile salmonids. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 62: 88–97.

*Received November 2010,  
received in revised form November 2011,  
accepted November 2011.*