



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

Sistemática

Variabilidad morfológica y evolución del grupo de musarañas *Cryptotis mexicanus* (Mammalia, Soricidae) mediante la perspectiva de la morfometría geométrica

TESIS

(POR ARTÍCULO CIENTÍFICO)

Geometric morphometrics clarifies the taxonomic status of semifossorial shrews (*Eulipotyphla*, Soricidae) from Mexican cloud forests

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

José Manuel Vilchis Conde

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Lázaro Guevara López

Instituto de Biología, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dra. Carolina Ureta Sánchez

Investigadora por México (Conahcyt)-Instituto de Ciencias de la Atmósfera y Cambio Climático, UNAM

Dr. Fernando A. Cervantes Reza

Instituto de Biología, UNAM

Ciudad Universitaria, CD. MX., AGOSTO 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

Sistemática

Variabilidad morfológica y evolución del grupo de musarañas *Cryptotis mexicanus* (Mammalia, Soricidae) mediante la perspectiva de la morfometría geométrica

TESIS

(POR ARTÍCULO CIENTÍFICO)

Geometric morphometrics clarifies the taxonomic status of semifossorial shrews (*Eulipotyphla*, Soricidae) from Mexican cloud forests

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

José Manuel Vilchis Conde

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Lázaro Guevara López

Instituto de Biología, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dra. Carolina Ureta Sánchez

Investigadora por México (Conahcyt)-Instituto de Ciencias de la Atmósfera y Cambio Climático, UNAM

Dr. Fernando A. Cervantes Reza

Instituto de Biología, UNAM

Ciudad Universitaria, CD. MX., AGOSTO 2023

COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

OFICIO: CGEP/CPCB/IB/0456/2023

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM

Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el 13 de marzo del 2023, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **SISTEMÁTICA** del alumno **VILCHIS CONDE JOSÉ MANUEL** con número de cuenta **313309748** por la modalidad de graduación de tesis por artículo científico titulado: **"Geometric morphometrics clarifies the taxonomic status of semifossorial shrews (Eulipotyphla, Soricidae) from Mexican cloud forests"**, que es producto del proyecto realizado en la maestría que lleva por título: **"Variabilidad morfológica y evolución del grupo de musarañas *Cryptotis mexicanus* (Mammalia, Soricidae) mediante la perspectiva de la morfometría geométrica"**, ambos realizados bajo la dirección del **DR. LAZARO GUEVARA LOPEZ**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. ENRIQUE MARTÍNEZ MEYER
Vocal: DRA. SANDRA MILENA OSPINA GARCÉS
Vocal: DRA. YOLANDA HORTELANO MONCADA
Vocal: DRA. LETICIA MARGARITA OCHOA OCHOA
Secretario: DR. FERNANDO ALFREDO CERVANTES REZA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 01 de junio de 2023

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA

c. c. p. Expediente del alumno.

RGA/EARR/rga



Agradecimientos institucionales

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas (Sistemática) de la Universidad Nacional Autónoma de México, por la excelente formación y la oportunidad de realizar mis estudios en tan prestigiosa institución.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por los fondos con la beca para estudios de posgrado (1086276).

Al Dr. Lázaro Guevara por su dirección a lo largo de este proceso, así como su apoyo y conocimiento en este proceso el cuál es y siempre será parte de mi formación científica. A la Dra. Carolina Ureta por sus consejos, su conocimiento y formación que permitieron expandir los límites del proyecto. Al Dr. Fernando Cervantes por su conocimiento, apoyo y retroalimentación que desde hace años han contribuido en mi crecimiento académico.

Agradecimientos a título personal

Esta etapa que concluye es tal vez una de las más desafiantes, así como gratificantes que he experimentado. No solo por los eventos globales (como lo fue una pandemia), sino por todos los cambios que a nivel personal significaron. Es por lo anterior que, si bien agradeceré de manera personal a un sinnúmero de personas, en el camino seguro se quedarán muchos nombres sin los cuales mediante palabras, mensajes, momentos o enseñanzas me apoyaron para salir adelante y poder concluir de manera satisfactoria no solo un grado académico, sino una etapa de mi vida.

A mi mamá, Adriana y mi papá, José Manuel. A pesar de todas las adversidades que han existido y que estuvieron presentes en esta etapa, han creído en mí y me han apoyado. Así como me han enseñado algunas de las lecciones más valiosas en esta vida, específicamente lo difícil que puede ser crecer y todo lo que ello conlleva, sin su guía probablemente hubiera sido más difícil.

A mis hermanos, Gre y Rodd, los cuales son y seguirán siendo motivos de muchos sentimientos, pero sobre todo alegrías y, sin los cuales en esta y todas las etapas de mi vida, no podría haber sido quien soy. Les agradezco que me hayan apoyado a crecer, a la vez que me permiten ver como lo hacen y aprender de ustedes.

A mi abuelo Alfonso, que desde pequeños nos brindó su cariño y apoyo, que con el tiempo me ha dado más lecciones de las que podría imaginar y seguirá siendo un ejemplo de vida. A mis abuelas Luz y Ofelia, así como a mi abuelo Jorge, quienes se adelantaron en el camino, que no llegaron a ver del todo en quien me convertí, pero que siempre serán una parte importante de mí.

A Abi por acompañarme en mil aventuras, pero sobre todo en los días buenos y los malos. Por enseñarme que, a pesar de las circunstancias, siempre hay manera de salir adelante, de disfrutar, de dar vuelta a las cosas y sobre todo descubrir nuevas maneras de disfrutar la vida.

A las y los profesores del posgrado que me orientaron, guiaron y enseñaron no solo conocimientos académicos, sino maneras de interpretar y disfrutar la ciencia.

Particularmente quiero agradecerles a las Dras. Yolanda, Carolina y Sandra, quienes me

han apoyado, guiado e inspirado a querer seguir creciendo no solo como científico, sino como persona. A los Dres. Lázaro y Fernando, quienes me han enseñado no solo desde el aula, sino en el quehacer científico y que me han guiado y permitido crecer en mi carrera académica. A todas y todos ustedes, muchas gracias.

A las curadoras, así como a las administradoras de las colecciones científicas consultadas por las facilidades ofrecidas para examinar especímenes bajo su cuidado: Y. Hortelano-Moncada y Julieta Vargas (CNMA); L. León-Paniagua (MZFC).

A las y los miembros de mi comité sinodal quienes contribuyeron en enriquecer el presente trabajo y que amablemente accedieron a ser parte de este proceso. Es un honor contar con sus comentarios. Al Dr. Enrique Martínez por su apoyo y colaboración a lo largo del proceso. A la Dra. Leticia Ochoa cuyos comentarios ayudaron a mejorar la estructura y redacción del presente. A la Dra. Sandra Ospina, quien con su experticia en el área de la morfometría geométrica y mastozoología me instruyó para hacer de mejor manera el presente trabajo. A la Dra. Hortelano, cuyos comentarios a lo largo de la realización del proyecto permitieron en todo momento encaminar de la mejor manera el desarrollo del mismo.

A todos los compañeros del laboratorio con quienes tuve la fortuna de coincidir y de los cuales he tenido la fortuna de aprender demasiado. En particular a los miembros del *Team musarañas*, los cuales hemos crecido de muy particulares y distintas maneras, pero todos compartimos la pasión por los mamíferos.

Finalmente, y no menos importantes, a aquellas personas que tengo el placer de llamar amigos, que de alguna u otra manera me han apoyado y acompañado en este camino. A Beto, Chava, Dani, Edna, Fany, Gerardo, Mariel, Mau, Paco, Pame, Roldán, Serguei, Tena y Toño. Me disculpo de antemano por aquellos nombres que pueda omitir en esta lista, pero a todos ustedes, muchas gracias.

Este trabajo es una pequeña parte de lo que soy, pero en él, hay una gran parte de ustedes, aquella que vive en mí.

Al pequeño José que sigue creyendo en si
y tratando de cumplir el sueño

*"Every individual matters. Every individual has a role to play.
Every individual makes a difference."*

*"Cada individuo importa. Cada individuo tiene un papel que
desempeñar. Cada individuo hace la diferencia".*

Jane Goodall

Índice

Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
<i>Historia taxonómica</i>	3
<i>La morfometría geométrica como herramienta en el estudio de las formas</i>	5
<i>Solución de problemas taxonómicos a través de la morfometría geométrica</i>	9
<i>El papel del ambiente en el estudio de la taxonomía</i>	10
Artículo producto de los estudios de Posgrado	11
Title page	13
Abstract	14
1 Introduction	15
2 Materials and Methods	17
3 Results	20
4 Discussion and conclusión	22
Acknowledgments	26
References	27
Tables	34
Figure legends	36
Figures	38
Supplementary material	45
Discusión general	59
<i>Morfometría geométrica y taxonomía</i>	59
<i>Implicaciones taxonómicas</i>	61
Conclusiones	62
Referencias bibliográficas	63

Resumen

Las musarañas de orejas cortas, *Cryptotis mexicanus* y *C. obscurus*, son mamíferos endémicos de México y estrechamente asociados a los bosques de niebla. A pesar de haber sido unas de las primeras especies de musarañas descritas en México, su taxonomía aún está en debate. La evidencia molecular y morfológica más reciente sugiere que los límites entre ambas especies no están bien definidos y que incluso podrían estar compuestas por más de un linaje. Es por lo anterior que en el presente proyecto de tesis se usó la morfometría geométrica para poner a prueba la existencia de al menos tres linajes evolutivos independientes (Norte, Centro y Sur) anteriormente propuestos con base en información de un gen mitocondrial (Vázquez-Ponce et al., 2021). Para lo anterior, se fotografiaron tres estructuras (cráneo, dentario y húmero) de 226 ejemplares de *C. mexicanus* y *C. obscurus* depositados en cuatro colecciones científicas. Se evaluó el cambio de la forma y el tamaño de las estructuras a lo largo de su distribución, y posteriormente se evaluó la relación del cambio de forma con otras variables (sexo, tamaño, linaje y características climáticas) a través de modelos lineales y de correlación. Se encontró que no existe dimorfismo sexual ni influencia de algún factor alométrico en la variación morfológica de este grupo de musarañas. Se recuperaron los tres linajes propuestos a través de las diferencias en la forma de las tres estructuras. Finalmente, en el dentario se observó que es posible discriminar al linaje Centro a través del tamaño y que, además, esta estructura covaría con las variables climáticas. Estos resultados soportan la existencia de los tres linajes propuestos genéticamente, los cuales están definidos geográficamente y que corresponderían a *C. mexicanus* (linaje Norte) y dos grupos más que deberían ser descritos y nombrados apropiadamente (linajes Centro y Sur).

Abstract

The short-eared shrews, *Cryptotis mexicanus* and *C. obscurus*, are mammals endemic to Mexico and closely associated with cloud forests. Despite being one of the first shrew species described in Mexico, its taxonomy is still under debate. More recent molecular and morphological evidence suggests that the boundaries between the two species are not well defined and may even be composed of more than one lineage. It is for this reason that in this thesis project geometric morphometry was used to test the existence of at least three independent evolutionary lineages (North, Center and South) previously proposed based on information from a mitochondrial gene. For this, three structures (skull, dentary and humerus) of 226 specimens of *C. mexicanus* and *C. obscurus* deposited in four scientific collections were photographed. The change in the shape and size of the structures along their distribution was evaluated, and subsequently the relationship of the change of shape with other variables (sex, size, lineage, and climatic characteristics) was evaluated through linear and correlation models. We found that there is no sexual dimorphism or influence of any allometric factor in the morphological variance of this group of shrews. The three proposed lineages were recovered through differences in the shape of the three structures. Finally, in the dentary it was observed that it is possible to discriminate the Center lineage through size and that, in addition, this structure covaries with climatic variables. These results support the existence of the three genetical proposed lineages, which are geographical defined and would correspond to *C. mexicanus* (Northern lineage) and two more groups that should be described and named appropriately (Central and Southern lineages).

Introducción

El orden Eulipotyphla representa el cuarto con mayor riqueza de especies de mamíferos en el mundo, solo detrás de los órdenes Rodentia, Chiroptera y Cetartiodactyla. Este orden incluye a la familia de las musarañas (Soricidae), la cuarta más diversa, solo detrás de Muridae, Cricetidae y Vespertilionidae (Burgin, et al., 2018). Pese a la gran riqueza de especies, así como su importancia ecosistémica, las musarañas representan uno de los grupos de mamíferos menos estudiados, lo cual ha ocasionado que algunos aspectos sobre su biología básica aún sean desconocidos (Guevara, et al., 2015; Guevara, 2017).

En México, la familia Soricidae está conformada por los géneros *Cryptotis*, *Megasorex*, *Notiosorex* y *Sorex*, siendo el primero el más diverso de la región Neotropical, además de ser el segundo con mayor número de representantes para México (Woodman y Timm, 2017). Dentro de este grupo, se encuentra la musaraña tropical mexicana (*Cryptotis mexicanus*), que es una especie endémica de México y restringida al bosque de niebla. Entre sus peculiaridades, tiene un estilo de vida semifosorial, lo cual se evidencia en una serie de modificaciones anatómicas del húmero, así como el ensanchamiento de los miembros anteriores y el alargamiento de las garras (Guevara, 2017; Woodman y Gaffney, 2014).

Historia taxonómica

La historia taxonómica del grupo *Cryptotis mexicanus* ha sido compleja, pues a lo largo de más de un siglo desde su descripción no ha habido un consenso taxonómico sobre los límites específicos. Fue descrita como *Blarina mexicana* por Elliott Coues en 1877 como una especie de musaraña de un color negruzco-marrón uniforme, con una ligera decoloración en el vientre, una cola larga comparada con otras especies de *Blarina*, con garras particularmente largas y pelaje abundante. La localidad tipo de este taxón fue referida como Xalapa, Veracruz. Posteriormente, en el año de 1895, C. H. Merriam retomó la descripción de la especie y la señaló como la especie con mayor distribución del género a lo largo del sur mexicano. Además, puntualizan que la mayoría de las poblaciones están aisladas en distintas montañas, por lo cual se pueden reconocer las subespecies *machetes*, *peregrinus* y *goldmani*. Otra de las aportaciones con el grupo en cuestión fue la descripción de *B. obscura*, cuya localidad tipo corresponde a Tulancingo, Hidalgo. Unos años después, Miller (1912) realizó el cambio de género, pasando así de *Blarina mexicana* a *Cryptotis mexicana* y de *B. obscura* a *C.*

obscura. Él reconoció además cuatro subespecies de *C. mexicana* (*mexicana*, *peregrina*, *goldmani* y *machetes*).

En 1954, G. G. Goodwin describió una nueva subespecie de la musaraña tropical mexicana y la nombró *C. mexicana madrea* para Tamaulipas; sin embargo, dichos ejemplares corresponderían a lo que antes se había descrito como *C. obscura*. En el año de 1970, J. R. Choate realizó una extensa revisión de las musarañas del género *Cryptotis* de Centroamérica, usando características morfológicas cualitativas, cuantitativas y afinidades biogeográficas. Choate fue capaz de detectar variación geográfica entre poblaciones de diversas especies, principalmente en el tamaño. Él consideró a *C. obscura* como una subespecie de *C. mexicana*, que se caracteriza únicamente por su tamaño relativamente menor y una coloración más oscura, sin embargo, el autor mencionó que el tamaño de muestra era pequeño, lo cual podría haber influido en la nula existencia de diferencias estructurales en el cráneo. Choate también sugirió que podría haber una zona de contacto entre ambas especies alrededor de los bosques de Hidalgo, Puebla y Veracruz. Tres años después (Choate, 1973), el mismo autor condensó la información en una revisión específica para *C. mexicana*, en la cual reconoció cuatro subespecies (*mexicana*, *nelsoni*, *obscura* y *peregrina*), teniendo una distribución desde el sur de Tamaulipas hasta Chiapas a lo largo de la Sierra Madre Oriental, el Sistema Montañoso Oaxaqueño y la Sierra Madre del Sur. En cuanto a la diagnosis, él mencionó que *C. mexicana obscura* puede distinguirse por una mayor pigmentación en las piezas dentales.

En 1999, Woodman y Timm revisaron las relaciones del grupo *C. goldmani*; para ello, hicieron una comparación entre los diferentes grupos de musarañas relacionadas, incluyendo aquellas del grupo *C. mexicana*. En dicho trabajo, ambos autores propusieron elevar a nivel específico a las cuatro subespecies: *C. mexicana*, *C. obscura*, *C. nelsoni* y *C. peregrina*. La justificación para esta propuesta se centró en las diferencias en características morfológicas internas y externas, como el tamaño de las garras y de las extremidades.

Más recientemente, Ramírez-Pulido y colaboradores (2004) analizaron características morfológicas de cinco especies del género *Cryptotis*, incluyendo a *C. mexicana* y *C. obscura*, encontrando diferencias en la coloración, pero no en el tamaño. Carraway (2007) apoya la propuesta de Woodman y Timm (1999), manteniendo el nivel específico para *C. mexicana* y *C. obscura*. Ella distingue a *C. obscura* de *C. mexicana* por un ligero cambio de coloración

dorsal, así como en la posición del proceso zigomático. Es importante mencionar que A. L. Gardner (2005) hizo la propuesta para el cambio de femenino a masculino para el género *Cryptotis* por lo que el nombre correcto cambia a ser *C. mexicanus* en lugar de *C. mexicana* y *C. obscurus* en lugar de *C. obscura*.

Más recientemente, Woodman (2010) y Woodman y colaboradores (2018) reconocieron la existencia de *C. obscurus*, ubicándola filogenéticamente como especie hermana de *C. mexicanus*, aunque Guevara y Cervantes (2014) señalaron el alto nivel de semejanza genética. En ese mismo sentido, morfológica y ambientalmente Guevara y Sánchez-Cordero (2018) no hallaron diferencias obvias que pudieran diferenciar a ambos taxones, por lo cual propusieron que *C. obscurus* fuera un sinónimo junior de *C. mexicanus*. Esto se reafirmó molecularmente tres años después con el estudio molecular de Vázquez-Ponce y colaboradores (2021) en el cual, a partir del análisis de secuencias de Citocromo b, evaluaron las relaciones entre las poblaciones de *C. mexicanus* y *C. obscurus*, encontrando al menos tres linajes diferenciables: Norte, Centro y Sur. Encontrándose que el linaje Norte está formado por los ejemplares de *C. obscurus*, así como algunos identificados como *C. mexicanus*. Con lo anterior, es claro que el estado taxonómico de *Cryptotis mexicanus* y *C. obscurus* aún es incierto.

La morfometría geométrica como herramienta en el estudio de las formas

Una alternativa utilizada para abordar problemas taxonómicos en grupos morfológicamente complejos, en donde es difícil obtener datos de otra naturaleza (e.g., genéticos), es el estudio de la forma de las estructuras, lo cual es posible de realizar a través de la morfometría geométrica (García y Sánchez-González, 2013; Hulme-Beaman, et al., 2018; Zúñiga-Reinoso y Benítez, 2015). Esta aproximación se basa en el uso de la estadística multivariada para evaluar la variación en la forma de las estructuras de los organismos en conjunto, a diferencia de la morfometría tradicional o lineal en la cual se compara únicamente la relación espacial de las estructuras a través de distancias y ángulos (Adams, et al., 2004; Rohlf, 1999, 2000).

La morfometría geométrica se basa en la localización de marcas (landmarks) en regiones anatómicas de referencia que además guardan homología en los organismos; se consideran como unidades discretas al localizarse de manera puntual en las estructuras (e.g., inserciones

musculares y procesos óseos). Un complemento para la descripción de la forma son las semimarcas (semilandmarks), que son series de puntos equidistantes que generalmente describen curvas pero que no representan puntos de homología anatómica. Las semimarcas están ancladas siempre a un par de marcas. Al conjunto de marcas y semimarcas se le denomina configuración, la cual es la representación de la forma de la estructura a analizar, en la cual se debe procurar albergar la mejor similitud con la estructura en los organismos (Zelditch, et al., 2012; figura 1).

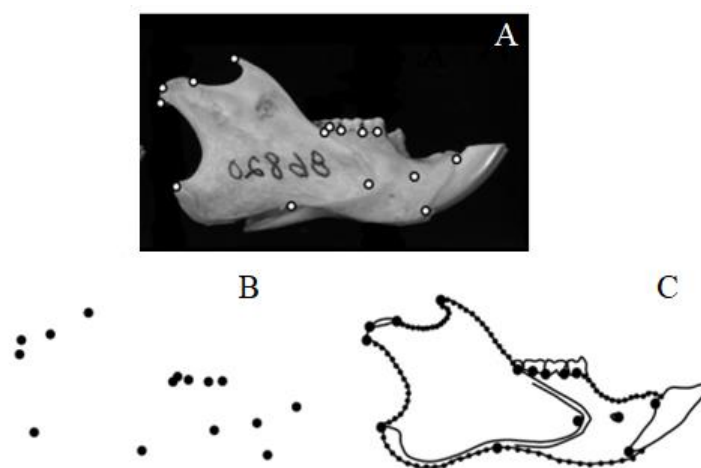


Figura 1. Esquema de marcas en una mandíbula de ardilla. (A) marcas en fotografía, (B) marcas y (C) configuración: marcas y semimarcas (modificada de Zelditch, et al., 2012 Capítulo 2).

Las configuraciones de marcas son la materia prima para los análisis morfométricos y para poder ser comparables entre organismos. Cada una de las marcas entre los diferentes organismos de la muestra debe eliminar los factores que no corresponden a la forma (i.e., tamaño, rotación y locación), lo que comienza con un proceso denominado superposición de Procrustes (Rohlf y Slice, 1990). En éste, se busca minimizar las diferencias entre las marcas de cada uno de los ejemplares sin alterar la forma de la estructura. El primer paso consta en centrar cada configuración de marcas con respecto a su centroide, esto a través de la traslación de las configuraciones a un mismo eje. Posteriormente, se re-escalan todas las configuraciones al tamaño promedio del conjunto de éstas para, finalmente, rotar las configuraciones teniendo una como referencia, con la finalidad de minimizar la suma de cuadrados de las distancias entre las marcas homólogas de los ejemplares (Figura 2).

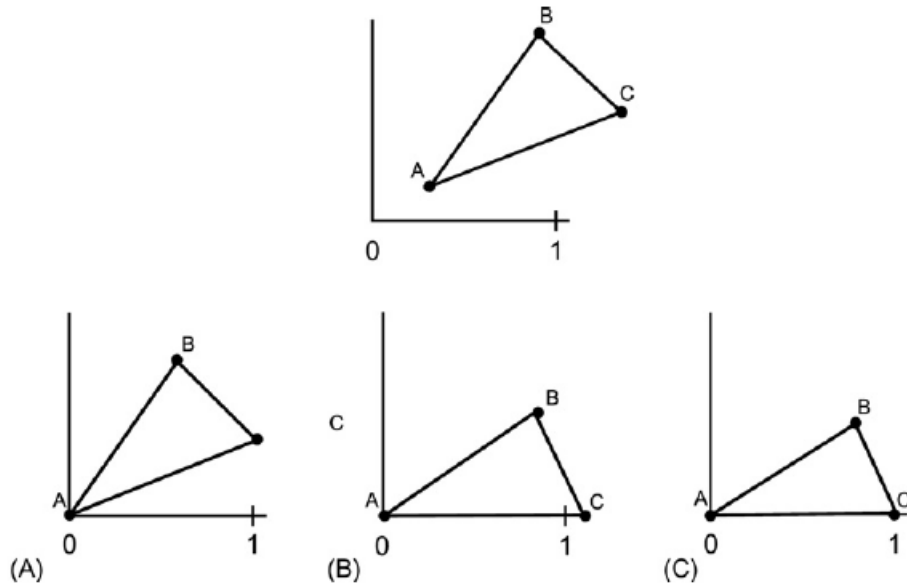


Figura 2. Pasos de la superposición de Procrustes. (A) traslación, (B) rotación y (C) re-escalamiento (tomado de Zelditch, et al., 2012).

Para el caso de las semimarcas, se realiza un deslizamiento como paso adicional, en el cual se busca la minimización de la suma de desviaciones cuadradas entre los diferentes ejemplares (Zelditch, et al., 2012). Sin embargo, es importante señalar que existen dos maneras de reacomodar las semimarcas. El primero, conocido como energía de flexión se basa en el desliz de los puntos sobre una línea paralela al contorno de la curva para minimizar la energía de flexión en cada uno de los puntos; el resultado de esto es una deformación mínima que mantiene más la forma para cada uno de los ejemplares. Por otro lado, el criterio de mínimas distancias Procrustes alinea todos los puntos, establece una curva base de acuerdo con la forma promedio y posteriormente traza una línea perpendicular a la curva (tangente a ésta) en cada una de las semimarcas. Estas tangentes serán los ejes sobre los cuales se deslizarán las semimarcas en la búsqueda de minimizar las diferencias de todos los puntos con la forma de referencia (Pérez, et al., 2006).

De manera específica, la superposición de Procrustes se logra luego de hacer transformaciones matemáticas donde se pasa la matriz de coordenadas de cada configuración (un par de coordenadas por marca en el caso de dos dimensiones) a diferentes espacios (Klingenberg, 2016). Por ejemplo, en el espacio de la preforma es posible conocer las diferencias que existen entre cada uno de los individuos, esto a través del tamaño del

centroide que es un estimado de la diferencia que existe en el tamaño de cada individuo con el tamaño promedio de todos, pues se busca en este espacio que dicho parámetro sea igual a uno en todos los casos. En este punto se elimina la diferencia de tamaño y posición.

Para obtener la forma correspondiente a cada individuo se hace una última serie de transformaciones donde se pasa a un espacio de la forma, el cual se construye al minimizar las distancias Procrustes entre cada una de las configuraciones y una configuración promedio. En este paso ya solo se tiene la forma, pues la rotación se elimina. Finalmente, tras pasar de este espacio de la forma, se hace otra transformación a un espacio no euclidiano (espacio de Kendall), a partir del cual se buscará un espacio tangente (euclidiano) que permite operar sus valores de manera estadística (Zelditch, et al., 2012).

El análisis de los datos se realiza a través de estadística multivariada. Una primera aproximación es la visualización y ordenación de los datos mediante la reducción de las variables de forma a variables más explicativas. Una manera de realizarlo es mediante el análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) o el análisis de variables canónicas (CVA, por sus siglas en inglés). En el PCA, se busca concentrar la mayor variación posible, mientras que en el CVA se buscan maximizar las diferencias entre las variables. Otro de los métodos usados en la morfometría geométrica para la visualización de la información es el uso de la gradilla de deformación, la cual permite observar de manera gráfica los puntos de mayor deformación producida por la variación en la muestra (Bookstein, 1984). Las gradillas de deformación se construyen a partir de la denominada *thin-plate spline*, la cual es una representación de una gradilla plana que se va deformando conforme existe mayor diferencia en los vectores formados entre cada uno de los ejemplares y la forma promedio, en cada marca (Zelditch, et al., 2012).

Finalmente, otro método comúnmente utilizado en morfometría geométrica es la construcción de modelos, pues en general se busca poder encontrar la relación del cambio en la forma con otras variables que respondan preguntas específicas, como el origen de la muestra, la diferencia específica, diferencia entre edades, sexos, climas o hábitats. Esto se puede obtener a partir de la modelación y aplicación de diferentes pruebas estadísticas como lo son regresiones múltiples, modelos lineales, pruebas de covarianza, de asignación, entre otras (Zelditch, et al., 2012).

Solución de problemas taxonómicos a través de la morfometría geométrica

Como se mencionó anteriormente, la morfometría geométrica es una herramienta que aporta información sobre la forma de las estructuras y relacionarla con otro tipo de variables. Esto se ha implementado en diferentes campos de estudio en la biología como lo son la taxonomía, ecología, fisiología, biofísica, entre otras áreas (Ekdale, 2016; Girdlestone, et al., 2020; Maestri, et al., 2018; Weisbecker, 2012)

En el grupo de los mamíferos, se han explorado muy diversos campos y a diferentes niveles taxonómicos. Por ejemplo, Marcus y colaboradores (2000) realizaron un trabajo con el cráneo de mamíferos pertenecientes a diferentes órdenes para conocer la señal filogenética de la forma del cráneo. Otro trabajo a niveles superiores al específico fue el realizado por Álvarez y colaboradores (2013) en el que analizaron la relación de diferentes estructuras implicadas en la locomoción, así como aspectos ecológicos de las especies. Para ello, utilizaron ejemplares de tres órdenes terrestres encontrando que en algunos casos la forma responde a la filogenia, que a su vez puede explicar parte de su locomoción y que está íntimamente relacionada con sus hábitos.

En cuanto a trabajos que evalúan el estado taxonómico, se cuenta con gran diversidad a lo largo de los diferentes órdenes. Por ejemplo, García y del Valle (2022) encontraron dimorfismo sexual, así como variación asociada al clima y ambiente al estudiar a *Hylaemys seuanezi*, una especie críptica de roedor en Brasil. Otro ejemplo, esta vez con miembros del orden Eulipotyphla y Rodentia, es el de Barčiová (2009), quien encontró que las mandíbulas de ejemplares de dichos órdenes pueden brindar información sobre la variación geográfica, el dimorfismo sexual y procesos evolutivos de los taxones. Un ejemplo reciente se refiere a *Glossophaga soricina* (Calahorra-Oliart, et al., 2021), una especie de murciélago considerada como críptica, pero que molecularmente podía incluir al menos dos linajes independientes. En este trabajo, los autores evaluaron dicha hipótesis mediante la aplicación de morfometría geométrica en el cráneo de la especie, encontrando que con esta herramienta se pudieron recuperar ambos linajes, aportando así mayor evidencia para resolver el problema taxonómico.

En cuanto a musarañas se refiere, existen diversos trabajos con este enfoque. Los trabajos más abundantes son con especies africanas de los géneros *Crocidura* (Cornette, et al., 2015;

Jacquet, et al., 2013; Saeedzadeh, et al., 2017) y *Myosorex* (Matthews y Stynder 2011). Para especies americanas se cuenta con trabajos para el género *Sorex* (Shchipanov, et al., 2014; 2016) y recientemente uno con *Notiosorex* (Camargo, et al., 2022). En general, el uso de la vista ventral del cráneo y lateral del dentario ha sido útil para discriminar poblaciones o especies, debido a la estrecha relación de estas estructuras con la alimentación

El papel del ambiente en el estudio de la taxonomía

A través del estudio de las características ambientales entre las diferentes poblaciones de especies es posible inferir procesos asociados con la divergencia de linajes, o establecer cómo se relaciona el ambiente con otras fuentes de variación como la morfología, fisiología o genética. Diversos estudios han relacionado el cambio de la forma en estructuras puntuales mediante morfometría geométrica con factores ambientales en diferentes grupos de mamíferos (Magnus, et al., 2018; Meloro, et al., 2014; Rychlik, et al., 2006). Dada la estrecha asociación de las musarañas del grupo *C. mexicanus* con el bosque de niebla, se sospecha que las condiciones ambientales a través del área de distribución podrían estar desempeñando un papel en la diferenciación o falta de ella dentro de los linajes (Guevara, 2019; Guevara y Sánchez-Cordero, 2018). Dentro del grupo *C. mexicanus*, dicha asociación con el hábitat de cada uno de los linajes propuestos aún no se ha evaluado con precisión.

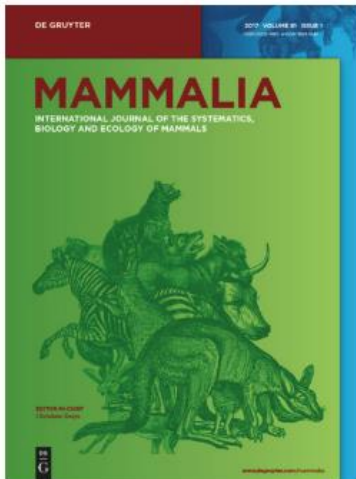
En resumen, el uso de morfometría geométrica ha permitido mejorar nuestra comprensión de las diferencias morfológicas en grupos crípticos o cuyos límites aún no han sido bien definidos, así como establecer la posible relación del clima con el cambio de la forma a lo largo de la distribución de las especies. Es por eso por lo que en el presente proyecto de tesis se evaluaron tres estructuras óseas (cráneo, dentario y húmero), con un enfoque de morfometría geométrica, con el objetivo de poner a prueba la existencia tres linajes dentro del par de especies *Cryptotis mexicanus* y *C. obscurus*, además de evaluar la influencia del ambiente en la forma de dichas estructuras.

Artículo producto de los estudios de Posgrado

Geometric morphometrics clarifies the taxonomic status of semifossorial shrews (Eulipotyphla, Soricidae) from Mexican cloud forests.

Fecha de envío: 07/02/2023

Revista:



Requires Authentication Published since January 1, 1936

Mammalia

ISSN: 1864-1547

Editor-in-chief: Christiane Denys

Impact Factor: 1.197



**Geometric morphometrics clarifies the taxonomic status of
semifossorial shrews (*Eulipotyphla*, *Soricidae*) from
Mexican cloud forests**

Journal:	<i>Mammalia</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Study
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Vilchis Conde, José Manuel; Universidad Nacional Autónoma de México Instituto de Biología, Zoología Ospina Garcés, Sandra; Universidad Veracruzana, Centro de Investigaciones Tropicales Ureta, Carolina; Universidad Nacional Autónoma de México Instituto de Ciencias de la Atmósfera y Cambio Climático Cervantes, Fernando; Instituto de Biología, UNAM, Zoology Guevara, Lázaro; INSTITUTO DE BIOLOGIA, ZOOLOGIA
Classifications:	Morphology, Taxonomy and Nomenclature
Keywords:	allometry, allopatric speciation, climate, <i>Cryptotis</i> , Mexican mammal, Neotropics

SCHOLARONE™
Manuscripts

Title page

Total word account: 4,938 words

Geometric morphometrics clarifies the taxonomic status of semifossorial shrews (Eulipotyphla, Soricidae) from Mexican cloud forests

José Manuel Vilchis-Conde¹, Sandra Milena Ospina-Garcés², Carolina Ureta³, Fernando A. Cervantes¹, Lázaro Guevara^{1,*}

¹Colección Nacional de Mamíferos, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. C.P. 04510 Coyoacán, Ciudad de México, Mexico.

²Centro de Investigaciones Tropicales, Universidad Veracruzana, José María Morelos No. 44 y 46. Col. Centro, C.P. 91000 Xalapa, Veracruz, México

³Investigadora por México (Conahcyt). Instituto de Ciencias de la Atmósfera y Cambio Climático, Universidad Nacional Autónoma de México, C.P. 04510 Coyoacán, Ciudad de México, Mexico

*e-mail: llg@ib.unam.mx

Short title: Geometric morphometrics of Mexican shrews

Abstract

The small-eared shrews *Cryptotis mexicanus* and *C. obscurus* (Eulipotyphla, Soricidae) are two closely related taxa from the northern Neotropics whose taxonomy is still unresolved. Here, we tested the hypothesis of three lineages (Northern, Central, and Southern) within this pair of semifossorial shrews. We photographed skulls, dentaries, and humeri from 226 museum specimens and used geometric morphometrics to evaluate sexual dimorphism, differences between lineages, and the effect of the environment on the shape of the structures. We found negligible differences between males and females, supporting previous studies of classical morphometrics in this genus. Our results also support the differentiation of semifossorial shrews into the three geographically isolated groups, where the size of the dentary and the shape of the three examined structures contribute to discrimination. We found a significant sign of the influence of the environment on the shape of the dentary but not on the skull or the humerus. We suggest that geographic isolation across climatically similar regions has contributed to the differentiation between lineages. We propose recognizing all three lineages as valid species that must be adequately described.

Keywords: allometry, allopatric speciation, climate, *Cryptotis*, Neotropics

1 Introduction

Shrews (Eulipotyphla, Soricidae) are the fourth most diverse family of mammals in the world (Burgin et al. 2018), behind murid and cricetid rodents (Muridae and Cricetidae) and vespertilionid bats (Vespertilionidae). In tropical and subtropical regions, taxonomic studies on shrews are still in progress, so the number of species discovered and described has increased notably in recent years (Camargo and Álvarez-Castañeda 2020; Esselstyn et al. 2021; Guevara 2023), and there are still rearrangements and new taxonomic proposals within some diverse genera.

In the Neotropics, small-eared shrews (genus *Cryptotis*) is the most diverse and widely distributed group, especially in wet and cold regions from central Mexico to Guatemala (Woodman and Timm 2017). In Mexico, a natural grouping of species has received the name of the *Cryptotis mexicanus* group, until recently composed of *C. nelsoni*, *C. magnus*, *C. mexicanus*, *C. obscurus*, and *C. phillipsii* (Guevara and Cervantes 2014). As in other shrew species of the Blarinini tribe, this group is characterized by its semifossorial habits (Woodman and Wilken 2019). It is highly associated with the humid montane forest (or cloud forest) along the Sierra Madre Oriental (SMO), the Trans-Mexican Volcanic Belt (TVB), Sierra Madre del Sur (SMS), and the Chiapas Highlands (Guevara et al. 2015). The most common and widely distributed species are *C. mexicanus* and *C. obscurus*, two closely related taxa whose taxonomy has been controversial and is still unresolved (Choate 1970; Guevara and Cervantes 2022; Woodman and Timm 1999).

Recently, the synonymy of *C. obscurus* with *C. mexicanus* was suggested due to their high molecular, morphological, and ecological similarity (Guevara and Cervantes 2014; Guevara and Sánchez-Cordero 2018). Despite this, we must note that there is an evident differentiation

between in skull size across different populations (see Fig. 4 in Guevara and Sánchez-Cordero 2018).. A recent phylogeographic study with the Cytochrome b mitochondrial gene revealed the possible recognition of three lineages throughout the distribution of this group of shrews.that inhabit similar environmental conditions but are isolated by barriers: (Vázquez-Ponce et al. 2021): (1) Northern, from the northernmost population in Tamaulipas to the eastern zone of the FVT; (2) Central, from the center of the SMO and the east region of the FVT to the Santo Domingo river, Oaxaca; and (3) Southern, from the south of the Santo Domingo River in the SMS to the Chiapas Highlands, east of the Isthmus of Tehuantepec (Figure 1). Therefore, it is necessary to collect more data and evaluate them with other taxonomic approaches to better elucidate the taxonomic and geographic status of this component of the *C. mexicanus* species group.

A complementary approach to address taxonomic problems in morphologically complex taxa is the study of shape through geometric morphometrics (Calahorra-Oliart et al. 2021; Dashti et al. 2022; Ospina-Garcés and León-Paniagua 2022), which is based on multivariate statistical tests where the spatial relationship between different structures of organisms is evaluated (Adams et al. 2004). Geometric morphometrics has been used in some taxonomic studies within the three subfamilies of shrews (Jacquet et al. 2013; Shchipanov et al. 2016; Matthews and Stynder 2011; Zidarova and Popov 2018). A common aspect in these studies has been using the skull, mandible, and some dental pieces to assess the differences between populations and species (Tse and Calede 2021; Zidarova and Popov 2018), showing that this method can be helpful in the assessment of taxonomic problems.

In this research, we use geometric morphometrics for evaluating morphological differentiation and test the proposal of three lineages within *C. mexicanus* and *C. obscurus* (Northern, Central, and Southern; *sensu* Vázquez-Ponce et al. 2021). In addition, we analyze the

relationship between environmental factors and the change in the shape of bone structures. With the above, we contribute to clarifying the taxonomic status and better understand the evolution of these shrews associated with humid mountain ecosystems.

2 Materials and Methods

2.1 Data collection

We examined 226 specimens of *Cryptotis mexicanus* and *C. obscurus* housed in four mammal collections (Supplementary Table S1): Colección Nacional de Mamíferos, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México City (CNMA); The University of Kansas Natural History Museum, Lawrence (KU); Museo de Zoología "Alfonso L. Herrera," Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México City (MZFC); and the National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington (USNM). Of the 226 specimens, 42 correspond to the Northern, 69 to the Central, and 115 to the Southern lineage. The assignment of the examined specimens to each group was made based on geographic location and recognition of barriers (see above).

We photographed the ventral view of the skull, lateral view of the left dentary, and ventral view of the left humerus using a Canon LS1 camera and a 50 mm lens for the skull and dentary and 22 mm for the humerus. We obtained 411 photographs, of which 181 correspond to the skull, 106 to the dentary, and 124 to the humerus. For each specimen, we recorded the sex and the collecting locality, to later be grouped into the three lineages. Due to the impossibility of photographing the specimens from Los Altos de Chiapas (part of the southern lineage), we did not include them in the present study. Cranial, dental, and postcranial terminology follows Woodman and Timm (1999) and Reed (1951).

2.2 Morphometric data

We used two-dimensional scanning for all three structures. For the skull, we used a configuration of 20 landmarks (Figure 2a), and for the dentary, 11 landmarks (Figure 2b). In both cases, the landmarks were located in the region corresponding to the dentition due to their importance in feeding (Ungar 2015). For the humerus, a structure highly associated with the semifossorial locomotion of *Cryptotis* shrews, we used 15 landmarks and 49 semilandmarks coordinates in seven curvatures (Figure 2c). Descriptions of the landmarks are provided in Supplementary Table S2.

The digitization of landmark configurations on images of the total sample was carried out with the program tpsDig Version 2.16 (Rohlf 2015). In the contours of the humerus, semilandmarks were located equidistantly using the drawing curve tool in tpsDig, and the semilandmark alignment protocol was made in tpsUtil Version 1.81.

To eliminate the shape variance due to scale, location, and rotation, and to obtain aligned coordinates derived from landmark configurations, we performed a Generalized Analysis of Procrustes, in which the configurations of all the individuals are rotated, positioned on the same axis, and readjusted to the same scale to make them comparable. The semilandmarks of the humerus were aligned using the bending energy criterion (Webster and Sheets 2010). We also obtained the centroid size (CS) as a size estimator of each geometric configuration, which is calculated as the squared sum of the distances of each landmark to the centroid of the configuration (Zelditch et al. 2012). Aligned configurations and CS were used to analyze shape and size variation in relation to geographic lineages and environmental data.

2.3 Statistical analysis

To evaluate the effect of the different variables and factors on the shape configurations of the views, we ran a Procrustes ANOVA model. To assess how much shape variance is explained by CS differences, we carried out a model in which the response variable was the shape, and the explanatory variable was the CS; then, we tested sexual dimorphism, eliminating from the analysis the specimens whose sex could not be determined. For CS, we performed an ordinary least-squared model to determine if there was a size difference among the previously proposed three groups. Subsequently, all these tests were performed considering the sum of squares and cross products of type I (sequential) and 999 iterations, using the package *geomorph* version 4.0.4 (Adams et al. 2022; Baken et al. 2021).

Additionally, to evaluate the size differences in the structures along the lineages, we also carried out a linear model in which we used the CS as a response variable and the origin of the specimens as an explanatory variable. This was using the *RRPP* package version 1.1.2, considering 999 iterations (Collyer and Adams 2019), and making a boxplot to visualize the differences detected.

To determine if there were differences between the three lineages, we carried out a model of the shape given the a priori grouping. We first performed a Principal Component Analysis (PCA) for each structure to reduce the number of explanatory variables, preserving the greatest variation of the shape (Supplementary Figures S1, S2, and S3). Then, we performed a Canonical Variable Analysis (CVA) based on the first ten principal components of shape variance for each geometric configuration to test group differences. To estimate the power of discrimination of geographic groups, we calculated the percentage of reassignment of specimens to their original group from linear discriminant analysis (Curran 2012) through the cross-validation parameter. Additionally, we obtained pairwise Mahalanobis distances between groups and tested their

significance using a permutation procedure of one thousand replicates on the original groups using the package *MASS* (Venables and Ripley 2013).

Finally, a previous study showed a broad overlap of climatic niches between *C. mexicanus* and *C. obscurus* (Guevara and Sánchez-Cordero 2018). However, it is unknown if the climate could exert any pressure on the morphological variation along the distribution of the lineages. Here, to determine if there is a relationship between climate and shape variation of different structures among lineages, we performed a partial least squares (PLS), establishing the degree of covariance between variables (Ospina-Garcés and León-Paniagua 2022; Rohlf and Corti 2000); therein we used 19 climatic variables that describe the average and extreme conditions of precipitation and temperature as covariates of the shape of each specimen associated with each of the lineages in the three bone structures. The variables were used at a resolution of 1 km² and were downloaded from the WorldClim web portal (Fick and Hijmans 2017).

3 Results

Tests for sexual dimorphism did not show differences between males and females in any of the three structures (skull, $p > 0.05$, $r^2 = 0.017$; dentary, $p > 0.5$, $r^2 = 0.027$; humerus, $p > 0.5$, $r^2 = 0.027$). In the case of the comparison between females and males by geographical area, there were no significant differences either (Table 1). Therefore, all subsequent analyzes were performed without considering the sex.

Significant differences were found in shape given by the size in all the structures, but the values of those differences indicate that the allometric component is very low (skull, $p < 0.01$, $r^2 = 0.016$; dentary, $p < 0.01$, $r^2 = 0.015$; humerus, $p > 0.01$, $r^2 = 0.014$). However, when analyzing the size differences between the lineages, the dentaries of the specimens of the Central

lineage turned out to be smaller than those of the Southern and Northern ones (Table 1). On the other hand, the Northern lineage had the most significant differentiation in size, including the largest specimens. The Southern lineage had an intermediate size and the smallest variation among individuals (Figure 3).

In all the structures examined, it was found that there are significant differences between the three lineages (skull, $p < 0.01$, $r^2 = 0.156$; dentary, $p < 0.01$, $r^2 = 0.115$; humerus, $p < 0.01$, $r^2 = 0.08$). In the skull, there were differences between all groups, although the most remarkable difference was found between the Northern and Southern lineages. The regions where the greatest variation was observed are along the molars and the foramen magnum (Figure 4). The allocation percentages obtained in the CVA were 57.44% for the Central, 64.51% for the Northern, and 90.29% for the Southern lineages. The population that presented the greatest variation in the first canonical variable was the Southern, while it was the Central in the second canonical variable (Table 2).

In the dentary and humerus, differences were also found between all groups, with the most remarkable difference observed between the Northern and Southern lineages. The differences in the dentary are located mainly in the region of the coronoid process and the molars. In this case, the highest allocation percentage was for the Southern lineage (76.32%), followed by the Central (72.5%) and the Northern (67.86%; Figure 5). For both the skull and the dentary, the representation of the canonical variables shows the overlap between all lineages; however, the first axis of variation helps to discriminate the Northern and Southern lineages better.

The variation for the humerus was primarily located in the region of greater and lesser tuberosity and the epicondyle (Figure 6). The humerus obtained the highest average allocation percentage compared to the other two structures (93.67%, Southern; 74.07%, Central; 72.22%, Northern). As for the canonical variables, the first had more significant variation in the specimens

of the Southern group, while the second variable had greater dispersion in the Northern. It can be observed in the analysis of canonical variables that the first canonical axis differentiates mainly the Central from the Southern lineage. In contrast, the differences are between the Central and Northern lineages. In summary, the analysis of the three structures indicates that the three lineages can be distinguished by their shape.

The PLS regression with precipitation and temperature variables indicated that the skull and humerus did not show significant covariance (skull, $p > 0.05$, $r^2 = 0.27$; humerus, $p > 0.5$, $r^2 = 0.14$). In contrast, there was significance in the dentary with a covariance percentage of 43% ($p < 0.005$, $r^2 = 0.436$). The Central lineage had the least dispersion on the climatic axis (X-axis). On the other hand, the Southern lineage was the one that had the greatest dispersion, as well as a tendency to have the lowest values. As for the shape (Y-axis), the Northern lineage is the one that presented a lower variation in the dentary (Figure 7).

4 Discussion and conclusión

4.1 Differences between females and males

The results indicate that the differences in size and shape between males and females are insignificant in the three structures evaluated (Table 1), which is consistent with previous studies based on classical or geometric morphometrics. For example, practically no differences between sexes were found in species of *Crocidura* and *Neomys*, two genera distantly related to *Cryptotis* (Zidarova 2015). In the common shrew, *Sorex araneus*, a species widely distributed in Europe and Asia, the differences in size are subtle and only for some adult jaw variables (Mistha and Searle 2019; Nováková and Vohralík 2017). Previous studies have not found notable differences between sexes in the genus *Cryptotis*, although it is important to mention that sample sizes have

been small (Choate 1970; Woodman and Timm 1993). More recently, a study with *C. nelsoni*, a species closely related to *C. mexicanus*, found no discernible differences between males and females (Guevara and Cervantes 2022).

4.2 Evolution of *Cryptotis mexicanus* and *C. obscurus*

The geometric morphometrics analysis supports the differentiation of at least three lineages within *Cryptotis mexicanus* and *C. obscurus*, previously proposed based in the phylogeographic analysis of the Cytochrome b (Vázquez-Ponce et al. 2021). Here, the allometry tests for the three structures were insignificant, indicating that if there are differences in size, these are not correlated with the change in shape. In the skull and humerus, the size of the structures did not allow differentiation between the three lineages proposed by Vázquez-Ponce et al. (2021). In the case of the dentary, there was a significant difference, particularly distinguishing the Central lineage with the smallest average size. This phenomenon has been observed in other groups of shrews of the *Sorex* and *Neomys* genera, in which it was possible to discriminate between species based on the size and shape of the jaw (Rychlik et al. 2006; Vasil 2015).

The shape of the three structures makes it possible to recognize the three lineages (Figures 4-6). Differences in the skull, particularly the dentary, could be associated with diet specialization since differences in shape affect bite force (Tse and Caledo 2021). It is important to highlight that, in the case of the dentary, not only the shape varies between the three lineages, but also the size. Consequently, the selection and use of prey could vary between lineages. In the case of shrews with semifossorial habits, such as the *C. mexicanus* group, modifications have been described in the humerus that could be related to food-foraging activities and shelter underground (Woodman and Morgan 2005). Differences in the humerus have proven to be helpful in discovering and describing species in the genus *Cryptotis* (Woodman 2010), as observed in the present study.

From a biogeographic point of view, it has been mentioned that Quaternary glacial-interglacial cycles have promoted changes in the geographic distribution of small-eared shrews with an effect on the morphological and genetic variation among populations (Choate 1970; Woodman and Timm 1999). Fossil records of *Cryptotis mexicanus* 100 km further north-northwest of its current range are evidence of distribution shifts during the Late Pleistocene (Arroyo-Cabrales et al. 2021). Some valleys and canyons that cross perpendicularly to the Sierra Madre Oriental and the northern Sierra Madre del Sur could act as barriers in interglacial phases due to their warmer conditions that do not allow the establishment of humid habitats (Guevara and Sánchez-Cordero 2018; Woodman and Timm 1999).

During glacial stages, these barriers could vanish due to the expansion of forests toward lower-elevation areas (Guevara 2020). However, for species of small size and with low dispersal capacity, such as shrews (Schloss et al. 2012), this forest expansion does not guarantee individuals' movement and the possible gene flow between populations. The prolonged geographic isolation could favor differentiation due to selective processes or genetic drift, allowing for variation in size and shape independently between lineages.

Previous examinations based on the analysis of qualitative characteristics or classical morphometrics failed to recognize the relatively subtle differentiation between the three lineages (Guevara and Sánchez-Cordero et al. 2018; Ramírez-Pulido et al. 2014); therefore, the taxonomic status of both species has been waiting to be resolved. Now, with the contribution of mitochondrial DNA and the shape of the bone structure, it is possible to have greater certainty of the evolution within this group of shrews and resolve their taxonomic status.

The environmental analysis provided evidence to understand the morphological variation throughout the distribution. Differences in the dentary between lineages as a response to climate could have repercussions on the foraging strategies under different climatic conditions (Rychlik

et al. 2006). It remains to be explored whether other environmental variables (not assessed here, such as the diet or soil characteristics) could help us understand the morphological adaptation of lineages to the heterogeneous conditions found throughout cloud forests in the northern Neotropics (Ruiz-Jiménez et al. 2012). The Central lineage that inhabits under lower temperatures and a smaller climatic range is expected to be a particularly climate-endangered species under climate change conditions (Foden et al. 2019; Nadeau et al. 2019).

4.3 Taxonomic conclusions

Our geometric morphometric data support the hypothesis of Vázquez Ponce et al. (2021) that there are at least three lineages within the *Cryptotis mexicanus*-*C. obscurus* group. The Northern lineage that covers Tamaulipas to the east of the TVB should be named *C. mexicanus* (s.s.), while *C. obscurus* would become a junior synonym. The Central lineage would have a restricted distribution between the Pico de Orizaba and the Santo Domingo river, Oaxaca, and would be pending to be named. Finally, the Southern lineage would be an endemic species to the cloud forests of northern Oaxaca and also awaiting a name. The population to the east side of the Isthmus of Tehuantepec, tentatively grouped with the southern lineage (Vázquez-Ponce et al. 2021), was not analyzed here. However, it is possible that it also represents an independent species recognized by qualitative and quantitative characteristics and long-term geographic isolation (Guevara and Sánchez-Cordero 2018), although with low genetic differentiation (Guevara and Cervantes 2022; Vázquez-Ponce et al. 2021). With these proposed taxonomic changes, the genus *Cryptotis* would become the most diverse genus of shrews in Mexico, with 20 species, followed by the genus *Sorex*. The formal description of each mentioned lineage is pending, collecting all available information.

Research ethics: No live animals were used in this study. The curators-in-charge granted permission to examine and photograph voucher specimens.

Acknowledgments: We thank the following curators and collection managers for the facilities offered to examine specimens in the collections under their care: J. Vargas and Y. Hortelano-Moncada (CNMA); L. León-Paniagua (MZFC); R. M. Timm (KU); and S. Peurach and N. Woodman (USNM). To the Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías for the funds with the scholarship to JMVC for graduate studies (1086276). We thank anonymous reviewers for their constructive comments, which helped us improve this manuscript. This article constitutes a requirement to obtain the M.S. degree in Biological Science (Systematics) to JMVC awarded by the Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Author contributions: Conceptualization and study design by JMVC, SMOG, CU, FAC, and LG. Data collection by JMVC and LG. Methodology and analyses supervised by SMOG and CU. All authors read and approved the final version of the manuscript.

Research funding: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) financed LG's trip to the Smithsonian Institution to examine and photograph specimens in 2013. The Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (DGAPA-PAPIIT IA201521) supported the examination of specimens from the Oaxaca Highlands.

Conflict of interest statement: The authors declare no conflicts of interest regarding this article.

References

- Baken, E.K., Collyer, M.L., Kaliontzopoulou, A. and Adams, D.C. (2021). geomorph v4. 0 and gmShiny: Enhanced analytics and a new graphical interface for a comprehensive morphometric experience. *Methods Ecol. Evol.* 12: 2355–2363.
- Adams, D.C., Rohlf, F.J. and Slice, D.E. (2004). Geometric morphometrics: ten years of progress following the ‘revolution’. *Ital. J. Zool.* 71: 5–16.
- Arroyo-Cabrales, J., Johnson, E. and Cruz, J.A. (2021). San Josecito Cave and Its Paleocological Contributions for Quaternary Studies in Mexico. *Quaternary* 4: 34.
- Baken, E.K., Collyer, M.L., Kaliontzopoulou, A. and Adams, D.C. (2021). geomorph v4. 0 and gmShiny: Enhanced analytics and a new graphical interface for a comprehensive morphometric experience. *Methods Ecol. Evol.* 12: 2355–2363.
- Burgin, C.J., Colella, J.P., Kahn, P.L. and Upham, N.S. (2018). How many species of mammals are there?. *J. Mammal.* 99: 1–14.
- Calahorra-Oliart, A., Ospina-Garcés, S.M. and León-Paniagua, L. (2021). Cryptic species in *Glossophaga soricina* (Chiroptera: Phyllostomidae): do morphological data support molecular evidence?. *J. Mammal.* 102: 54–68.
- Camargo, I. and Álvarez-Castañeda, S.T. (2020). A new species and three subspecies of the desert shrew (*Notiosorex*) from the Baja California peninsula and California. *J. Mammal.* 101: 872–886.
- Choate, J. (1970). Systematics and zoogeography of Middle American shrews of the genus *Cryptotis*. *Misc. publ. Univ. Kans. Mus. Nat. Hist.* 19: 195–317.

- Collyer, M. L., and D. C. Adams. (2019). RPP: Linear Model Evaluation with Randomized Residuals in a Permutation Procedure. R package version 0.4.0. Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=RRPP>
- Curran, S.C. (2012). Expanding ecomorphological methods: geometric morphometric analysis of Cervidae post-crania. *J. Archaeol. Sci.* 39: 1172–1182.
- Dashti, Z., Alhaddad, H. and Alhajeri, B.H. (2022). A geometric morphometric analysis of geographic variation in the Cape Short-eared gerbil, *Desmodillus auricularis* (Rodentia: Gerbillinae). *Mammalia* 86: 615–631.
- Esselstyn, J.A., Achmadi, A.S., Handika, H., Swanson, M.T., Giarla, T.C. and Rowe, K.C. (2021). Fourteen new, endemic species of shrew (Genus *Crocidura*) from Sulawesi reveal a spectacular island radiation. *Bull. Am. Mus. Nat.* 454:1–108.
- Fick, S.E. and Hijmans, R.J. (2017). WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol.* 37: 4302–4315.
- Foden, W. B., Young, B. E., Akçakaya, H. R., Garcia, R. A., Hoffmann, A. A., Stein, B. A., Thomas, C.D., Wheatley Ch. J., Bickford, D., Carr J.A., Hole, D.G., Martin T.G., Pacifici, M., Pearce-Higgins, J.W., Platts, P.J., Visconti, P., Watson, J.E.M, Huntley, B. (2019). Climate change vulnerability assessment of species. *Wiley interdisciplinary reviews: Climate Change*, 10: e551.
- Guevara, L. (2020). Altitudinal, latitudinal and longitudinal responses of cloud forest species to Quaternary glaciations in the northern Neotropics. *Biol. J. Linn. Soc.* 130: 615–625.
- Guevara, L. (2023). A new species of small-eared shrew (Soricidae, *Cryptotis*) from El Triunfo Biosphere Reserve, Chiapas, Mexico. *J. Mammal.* gyac125.

- Guevara, L. and Cervantes, F.A. (2014). Molecular systematics of small-eared shrews (Soricomorpha, Mammalia) within *Cryptotis mexicanus* species group from Mesoamérica. *Acta Theriol.* 59: 233–242.
- Guevara, L., Cervantes, F.A. and Sánchez-Cordero, V. (2015). Riqueza, distribución y conservación de los topos y las musarañas (Mammalia, Eulipotyphla) de México. *Therya* 6: 43–68.
- Guevara, L. and Cervantes, F.A. (2022). Taxonomy and conservation of the critically endangered shrew *Cryptotis nelsoni* (Eulipotyphla: Soricidae), endemic to Los Tuxtlas, Veracruz, México. *J. Mammal.* 103: 1237–1251.
- Guevara, L. and Sánchez-Cordero, V. (2018). Patterns of morphological and ecological similarities of small-eared shrews (Soricidae, *Cryptotis*) in tropical montane cloud forests from Mesoamerica. *Syst. Biodivers.* 16: 551–564.
- Jacquet, F., Nicolas, V., Denys, C., Hutterer, R., Decher, J., Colyn, M. and Couloux, A. (2013). New status for two African giant forest shrews, *Crocidura goliath goliath* and *C. goliath nimbasilvanus* (Mammalia: Soricomorpha), based on molecular and geometric morphometric analyses. *Afr. Zool.* 48: 13–29.
- Matthews, T. and Stynder, D.D. (2011). An analysis of two *Myosorex* species (Soricidae) from the Early Pliocene site of Langebaanweg (West coast, South Africa) using geometric morphometrics, linear measurements, and non-metric characters. *Geobios* 44: 87–99.
- Mishta, A. and Searle, J. B. (2019). Morphology and Genetics of the Common Shrew: General Features. In: Searle, J. B., Polly, P. D., and Zima, J. (Eds). *Shrews, Chromosomes and Speciation*. Cambridge: Cambridge University Press., pp. 68–111.

- Nadeau, C. P. and Urban, M. C. (2019). Eco-evolution on the edge during climate change. *Ecography*. 42: 1280–1297.
- Nováková, L. and Vohralík, V. (2017). Age and sex skull variation in a model population of the common shrew (*Sorex araneus*). *Folia Zool.* 66: 254–261.
- Ospina-Garcés, S.M. and Leon-Paniagua, L. (2022). The influence of geography in the cranial diversification of the bulldog bats of the genus *Noctilio* (Noctilionidae: Chiroptera). *Org. Divers. Evol.* 22: 1099–1121.
- Ramirez-Pulido, J., González-Ruiz, N., Gardner, A.L. and Arroyo-Cabrales, J. (2014). List of recent land mammals of Mexico. *Spec. publ. Mus. Tex. Tech. Univ.* 63.
- Reed, C. A. (1951). Locomotion and appendicular anatomy in three soricoid insectivores. *Am. Midl. Nat.* 45: 513–671.
- Rohlf, F.J., 2015. tpsDig, version 2.16: A program for digitizing landmarks and outlines for geometric morphometrics. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook. Available at: <https://sbmorphometrics.org/index.html>
- Rohlf, F.J. and Corti, M. (2000). Use of two-block partial least-squares to study covariation in shape. *Syst. Biol.* 49: 740–753.
- Ruiz-Jiménez, C.A., Téllez-Valdés, O. and Luna-Vega, I. (2012). Clasificación de los bosques mesófilos de montaña de México: afinidades de la flora. *Rev. Mex. Biodivers.* 83: 1110–1144.
- Rychlik, L., Ramalhinho, G. and Polly, P.D. (2006). Response to environmental factors and competition: skull, mandible and tooth shapes in Polish water shrews (*Neomys*, Soricidae, Mammalia). *J. Zoolog. Syst. Evol.* 44: 339–351.

- Schloss, C.A., Nuñez, T.A. and Lawler, J.J. (2012). Dispersal will limit ability of mammals to track climate change in the Western Hemisphere. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109: 8606–8611.
- Shchipanov, N.A., Sycheva, V.B. and Tumasyan, F.A. (2016). Morphometric distances and population structuring in the common shrew *Sorex araneus* L.(Lipotyphla: Soricidae). *Biol. Bull.* 43: 437–449.
- Tse, Y.T. and Caledo, J.J. (2021). Quantifying the link between craniodental morphology and diet in the Soricidae using geometric morphometrics. *Biol. J. Linn. Soc.* 133: 28–46.
- Ungar, P.S. (2015). Mammalian dental function and wear: a review. *Biosurf. Biotribol.* 1: 25–41.
- Vasil'ev, A.G., Vasil'eva, I.A. and Kourova, T.P. (2015). Analysis of coupled geographic variation of three shrew species from southern and northern Ural taxocenes. *Russ. J. Ecol.* 46: 552–558.
- Vázquez-Ponce, F.J., Hernández-Canchola, G., Jiménez-Marín, A.R. and Guevara, L. (2021). Divergencia genética en musarañas (Mammalia: Soricidae) de los bosques húmedos de montaña al norte del Neotrópico. *Rev. Mex. Biodivers.* 92: e923781.
- Venables, W.N. and Ripley, B.D., 2013. *Modern applied statistics with S-PLUS*. Springer Science & Business Media.
- Webster, M., Sheets, H.D. (2010). A practical introduction to landmark-based geometric morphometrics. *Quant. Meth. Paleobiol.* 16: 168–188.
- Woodman, N. (2010). Two new species of shrews (Soricidae) from the western highlands of Guatemala. *J. Mammal.* 91: 566–579.
- Woodman, N. and Morgan, J.J. (2005). Skeletal morphology of the forefoot in shrews (Mammalia: Soricidae) of the genus *Cryptotis*, as revealed by digital X-rays. *J. Morphol.* 266: 60–73.

- Woodman, N., and Wilken, A. T. (2019). Comparative functional skeletal morphology among three genera of shrews: implications for the evolution of locomotor behavior in the Soricinae (Eulipotyphla: Soricidae). *J. Mammal.* 100: 1750–1764.
- Woodman, N. and Timm, R.M. (1993). Intraspecific and interspecific variation in the *Cryptotis nigrescens* species complex of small-eared shrews (Insectivora: Soricidae), with the description of a new species from Colombia. *Fieldiana Zool.* 74: 1–30.
- Woodman, N. and Timm, R.M. (1999). Geographic variation and evolutionary relationships among broad-clawed shrews of the *Cryptotis goldmani*-group (Mammalia: Insectivora: Soricidae). *Fieldiana Zool.* 91: 1–35.
- Woodman, N. and Timm, R.M. (2017). A new species of small-eared shrew in the *Cryptotis thomasi* species group from Costa Rica (Mammalia: Eulipotyphla: Soricidae). *Mammal Res.* 62: 89–101.
- Zelditch, M.L., Swiderski, D.L. and Sheets, H.D. (2012). Simple size and shape variables: shape coordinates. In: Zelditch M.L, Swiderski D.L, Sheets H.D (Eds). *Geometric morphometrics for biologists* (Second Edition). San Diego: Academic Press. pp. 51–74.
- Zidarova, S. (2015). Is there sexual size dimorphism in shrews? A case study of six European species of the family Soricidae. *Acta Zool. Bulg.* 67: 19–34.
- Zidarova, S.A. and Vulkov Popov, V. (2018). Patterns of craniometric variability of six common species of shrews (Soricidae: *Crocidura*, *Neomys*, *Sorex*). *Acta Zool. Acad. Sci. Hung.* 64: 259–276.

Tables

Table 1. Results of the Procrustes ANOVA testing for sexual dimorphism, allometry, and size among the three lineages (Northern, Central, and Southern) of the shrews *Cryptotis mexicanus* (squares) and *C. obscurus* from Mexico.

Shape ~ Sex			
	Pr(>F)	r ²	F
Skull	0.139	0.018	1.238
Dentary	0.523	0.027	0.946
Humerus	0.228	0.028	1.16
Shape ~ Centroid size			
Skull	0.003	0.016	3.70
Dentary	0.002	0.032	3.80
Humerus	0.028	0.015	1.95
Centroid size ~ Linage			
Skull	0.728	0.004	0.361
Dentary	0.001	0.146	8.803
Humerus	0.514	0.010	0.624

Table 2. Mahalanobis distances obtained at the linear discriminant analyses for each structure.

Percentage obtained in the reclassification discriminant function for each orno- of the lineages of the shrews *Cryptotis mexicanus* and *C. obscurus* from Mexico. *P*-values equal or less than 0.01 in all cases.

Lineage comparison	Mahalanobis distances	Reclassification discriminant function
Skull		
Northern—Central	1.77	65—57 %
Northern—Southern	2.98	65—90 %
Central—Southern	2.27	57—90 %
Dentary		
Northern—Central	1.92	68—73 %
Northern—Southern	2.69	68—76 %
Central—Southern	1.98	73—76 %
Humerus		
Northern—Central	2.5	72—74 %
Northern—Southern	2.5	72—94 %
Central—Southern	2.86	74—94 %

Figure legends

Figure 1: Presence records and current potential distributions in grey (*sensu* Sánchez-Cordero et al. 2016) of the semifossorial shrews *Cryptotis mexicanus* (triangles) and *C. obscurus* (crosses), endemic to Mexico (gray in inserted box). The black bars indicate the barriers that isolate three genetic lineages (modified from Vázquez-Ponce *et al.* 2021).

Figure 2: Configuration of landmarks recorded in the ventral view of the skull (a), the lateral view of the left side of the mandible (b), and the ventral view of the humerus (c) of the shrews *Cryptotis mexicanus* and *C. obscurus* from Mexico. At the humerus, the white lines are the curves composed of semilandmarks. Descriptions of landmarks and curves are provided in Table S1. The scale in a and b corresponds to 1 cm; in c corresponds to 5 mm.

Figure 3: Box plots showing variation in dentary size among the three lineages (Northern, Central, and Southern) of semifossorial shrews of Mexico. The thick line represents the mean of the data.

Figure 4: Plots of the 1st two canonical axes from a discriminant function analysis of the ventral view of the skull. The vectors between the mean shape of all the specimens and the mean shape of each of the proposed lineages (Northern, Central and Southern) are shown.

Figure 5: Plots of the 1st two canonical axes from a discriminant function analysis of the lateral view of the left dentary. The vectors between the mean shape of all the specimens and the mean shape of each of the proposed lineages (Northern, Central and Southern) are shown.

Figure 6: Plots of the 1st two canonical axes from a discriminant function analysis of the ventral view of the left humerus. The vectors between the mean shape of all the specimens and the mean shape of each of the proposed lineages (Northern, Central, and Southern) are shown.

Figure 7: Regression between the shape (coordinate values) of the dentary and climatic variables for specimens of the three lineages (Northern, Central, and Southern) of semifossorial shrews of Mexico. The vectors are shown for the predicted shapes at the environmental extremes.

Figures

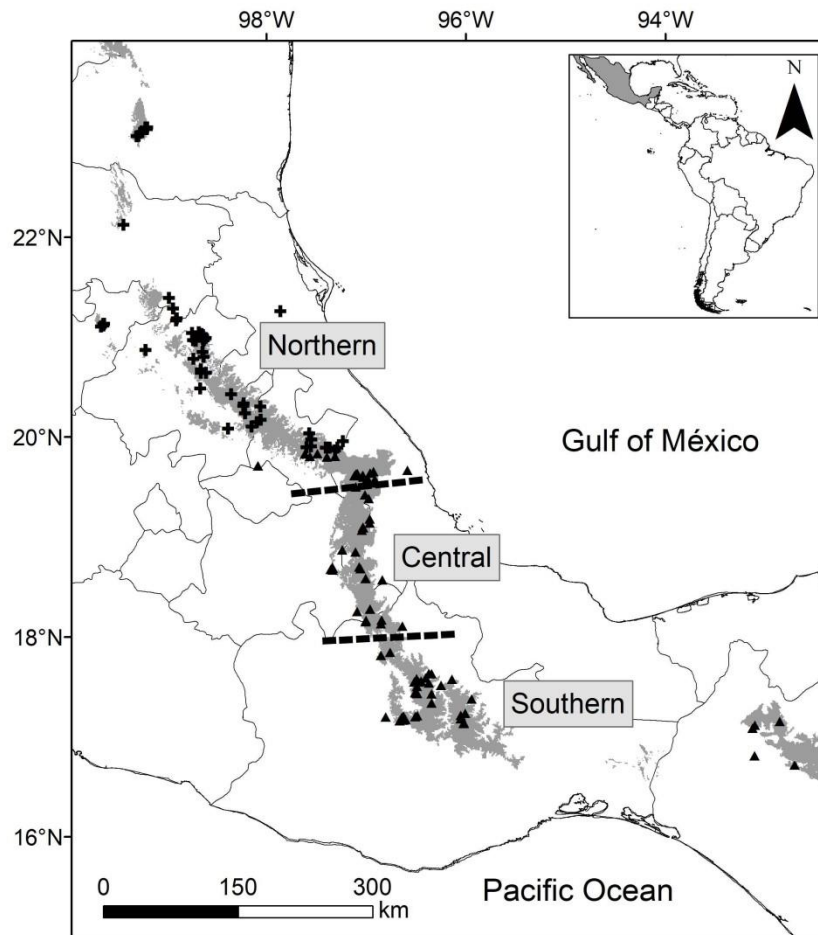


Figure 1: Presence records and current potential distributions in grey (sensu Sánchez-Cordero et al. 2016) of the semifossorial shrews *Cryptotis mexicanus* (triangles) and *C. obscurus* (crosses), endemic to Mexico (gray in inserted box). The black bars indicate the barriers that isolate three genetic lineages (modified from Vázquez-Ponce et al. 2021).

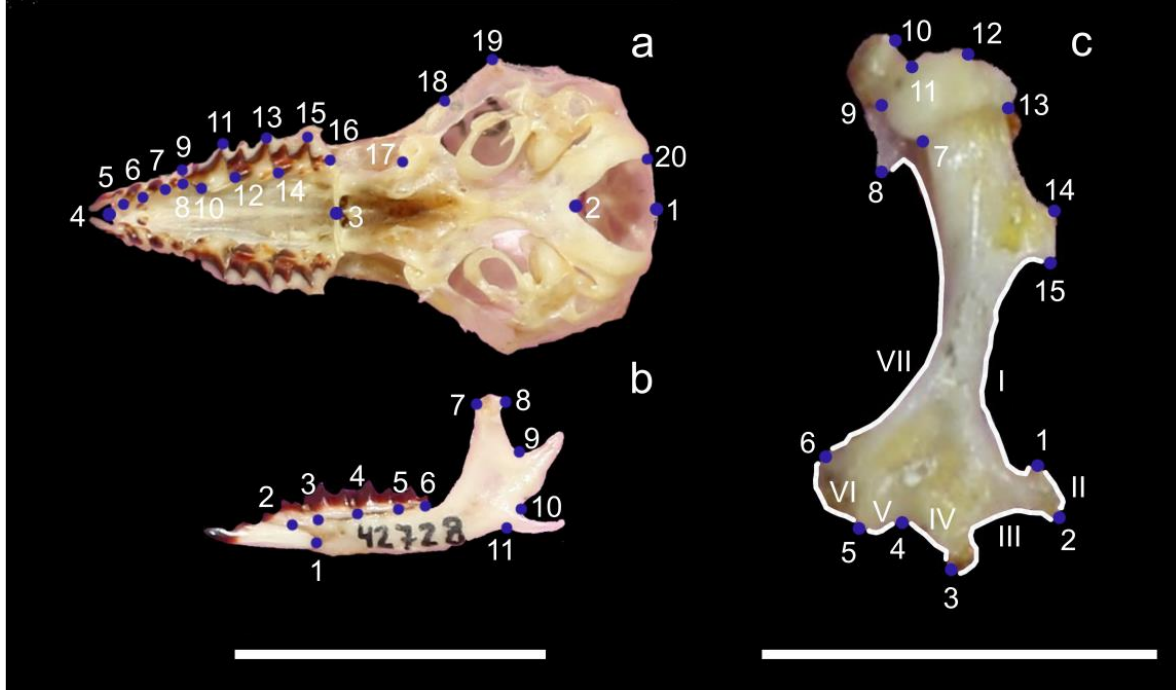


Figure 2: Configuration of landmarks recorded in the ventral view of the skull (a), the lateral view of the left side of the mandible (b), and the ventral view of the humerus (c) of the shrews *Cryptotis mexicanus* and *C. obscurus* from Mexico. At the humerus, the white lines are the curves composed of semilandmarks. Descriptions of landmarks and curves are provided in Table S1. The scale in a and b corresponds to 1 cm; in c corresponds to 5 mm.

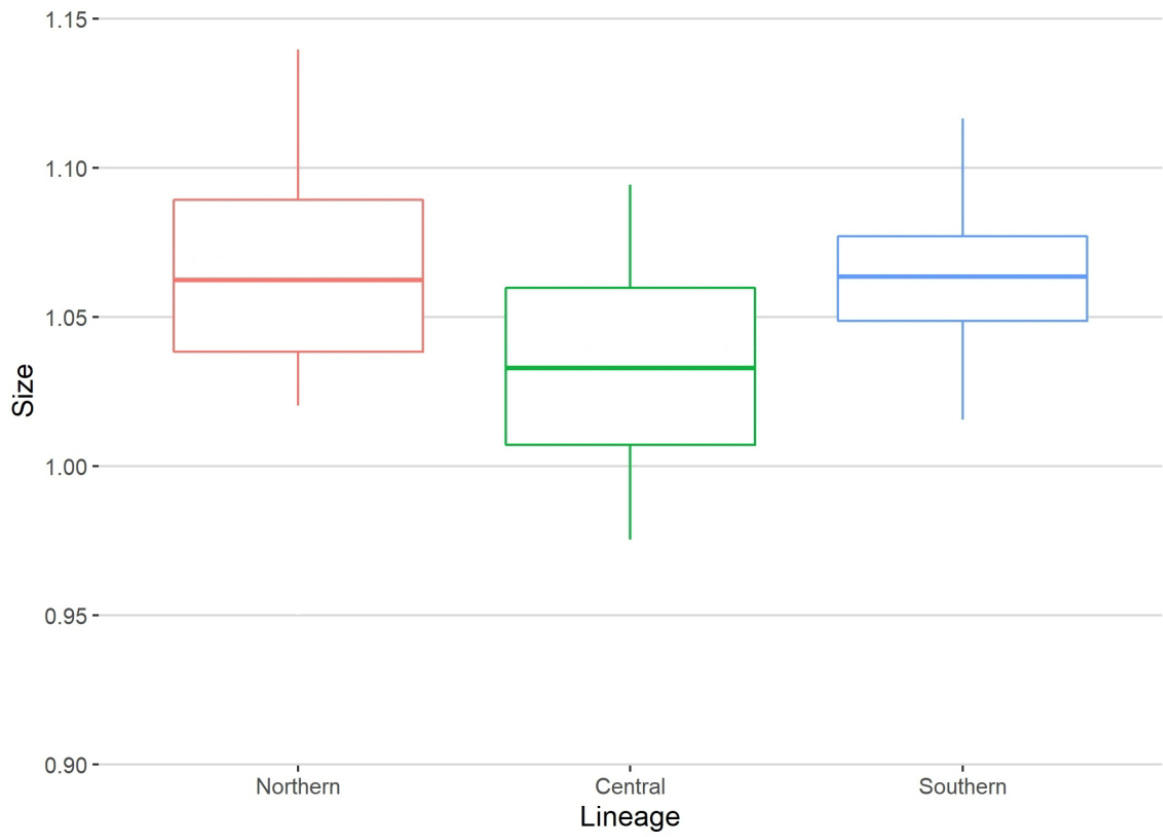


Figure 3: Box plots showing variation in dentary size among the three lineages (Northern, Central, and Southern) of semifossorial shrews of Mexico. The thick line represents the mean of the data.

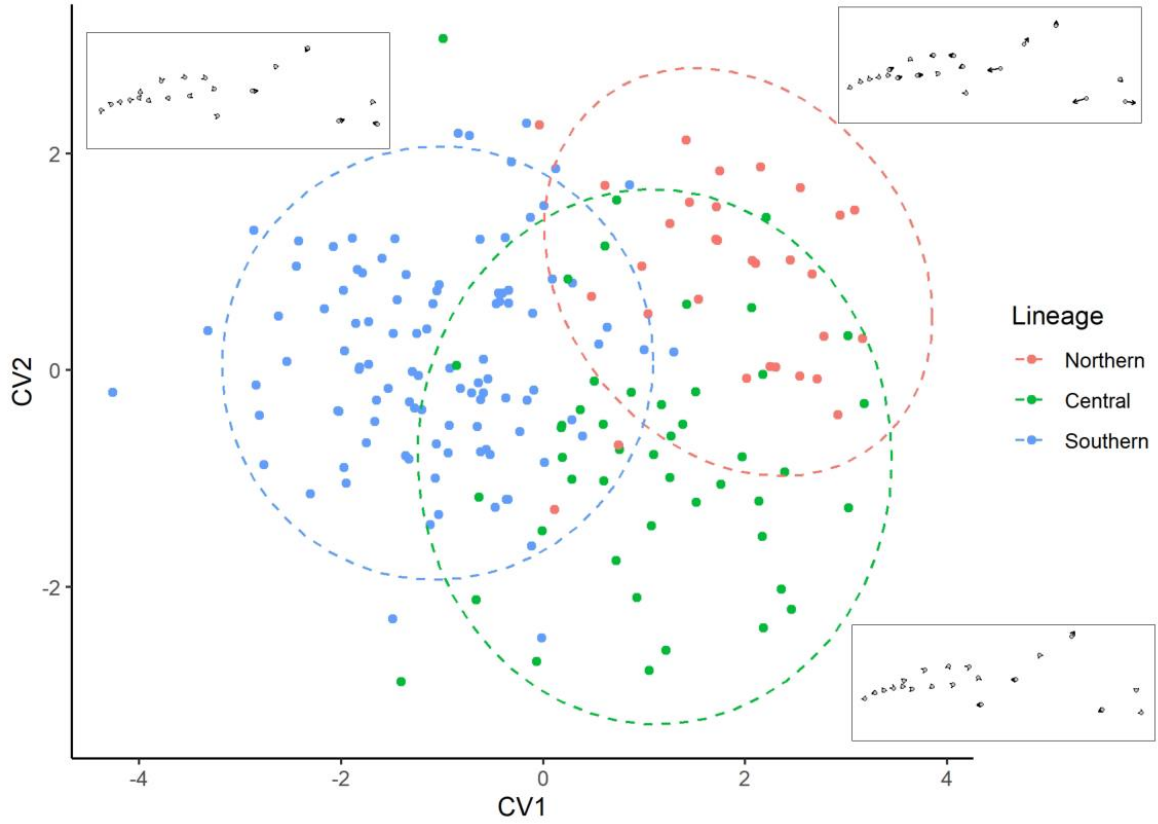


Figure 4: Plots of the 1st two canonical axes from a discriminant function analysis of the ventral view of the skull. The vectors between the mean shape of all the specimens and the mean shape of each of the proposed lineages (Northern, Central and Southern) are shown.

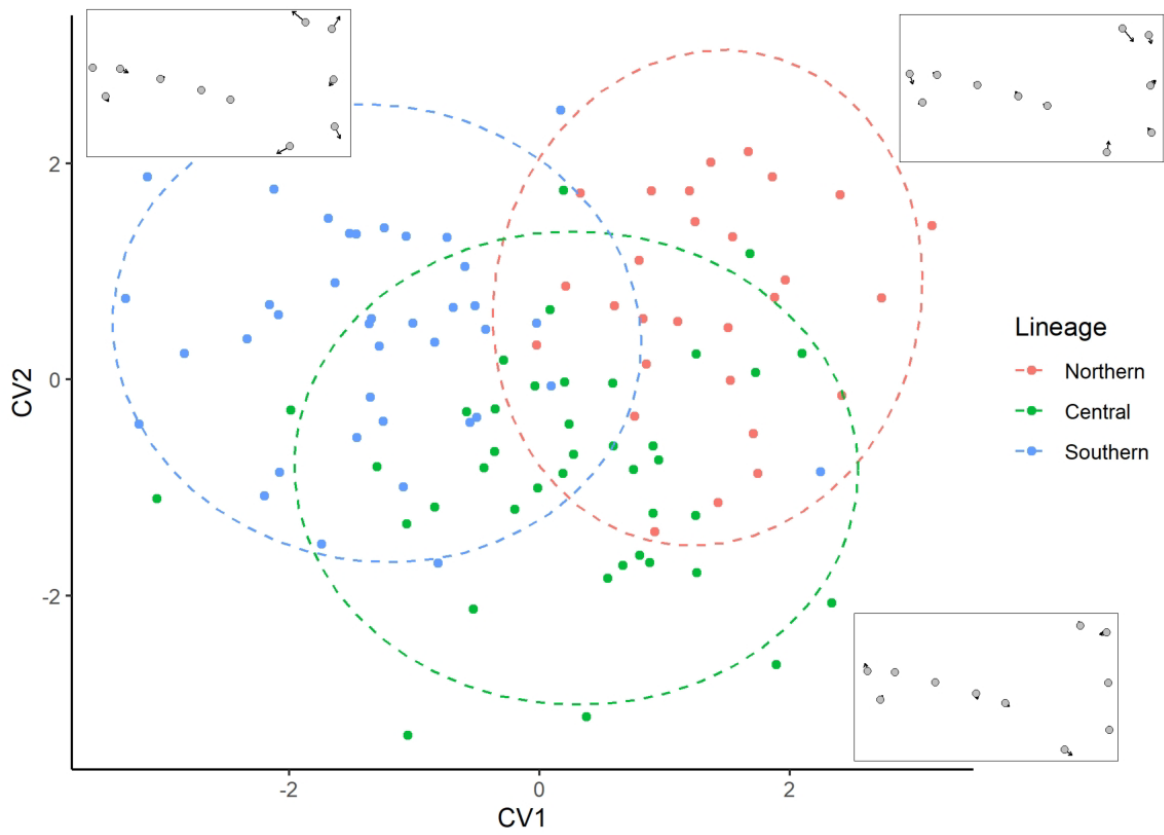


Figure 5: Plots of the 1st two canonical axes from a discriminant function analysis of the lateral view of the left dentary. The vectors between the mean shape of all the specimens and the mean shape of each of the proposed lineages (Northern, Central and Southern) are shown.

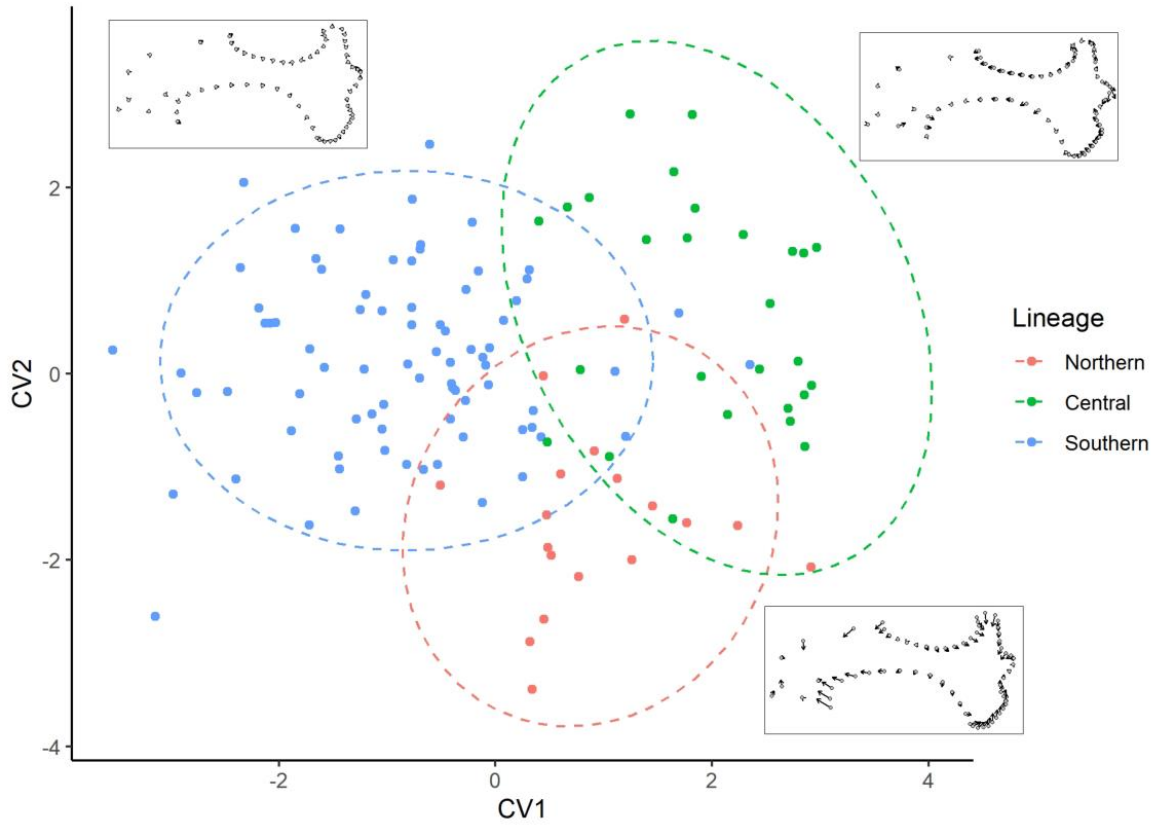


Figure 6: Plots of the 1st two canonical axes from a discriminant function analysis of the ventral view of the left humerus. The vectors between the mean shape of all the specimens and the mean shape of each of the proposed lineages (Northern, Central and Southern) are shown.

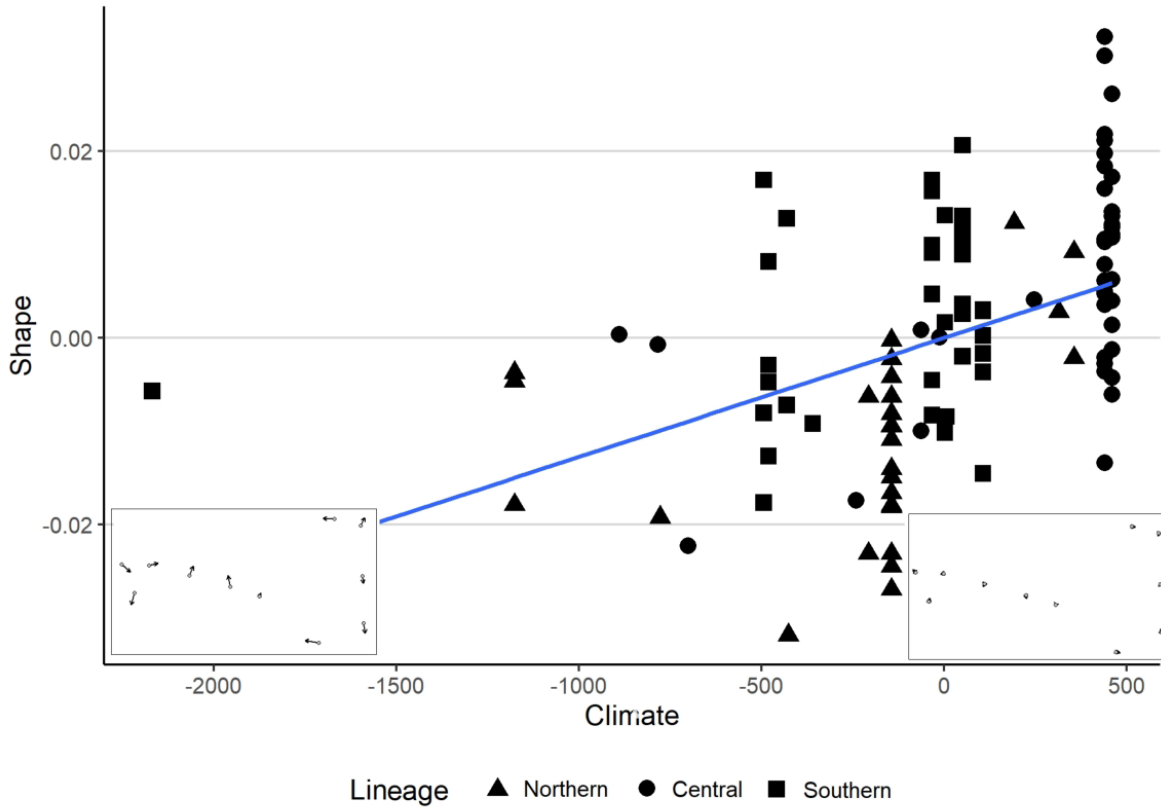


Figure 7: Regression between the shape (coordinate values) of the dentary and climatic variables for specimens of the three lineages (Northern, Central, and Southern) of semifossorial shrews of Mexico. The vectors are shown for the predicted shapes at the environmental extremes.

Supplementary material: Geometric morphometrics clarifies the taxonomic status of semifossorial shrews (Eulipotyphla, Soricidae, *Cryptotis*) from Mexican cloud forests

Table S1. Geographic information of voucher specimens of small-eared shrews used in the present study. Acronyms of collections are: Colección Nacional de Mamíferos, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México City (CNMA); The University of Kansas Natural History Museum, Lawrence (KU); Museo de Zoología "Alfonso L. Herrera," Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México City (MZFC); and the National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington (USNM). Species according to the limit of geographic distribution suggested by Choate (1970; *Cryptotis obscurus*, Cobs; *C. mexicanus*, Cmex). Structure analyzed for the specimen (S, S; D, D; H, H). Sex is indicated with the initial (F, female; M, male) or as unknown (?).

Catologue Number	Collection	Lineage	Species	Structure	Sex	State	Longitude	Latitude
44624	CNMA	Northern	Cobs	S, D, H	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44625	CNMA	Northern	Cobs	S, D, H	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44626	CNMA	Northern	Cobs	S, D, H	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44627	CNMA	Northern	Cobs	S, D	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44628	CNMA	Northern	Cobs	D, H	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44629	CNMA	Northern	Cobs	S, D, H	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44630	CNMA	Northern	Cobs	S, D	M	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44631	CNMA	Northern	Cobs	S, D	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44632	CNMA	Northern	Cobs	H	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44633	CNMA	Northern	Cobs	S, D, H	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44634	CNMA	Northern	Cobs	S, D	M	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44635	CNMA	Northern	Cobs	D, H	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44636	CNMA	Northern	Cobs	S, D, H	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44637	CNMA	Northern	Cobs	S, D, H	M	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44638	CNMA	Northern	Cobs	S, H	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44639	CNMA	Northern	Cobs	D, H	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028

44640	CNMA	Northern	Cobs	S, D	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
44641	CNMA	Northern	Cobs	S, D, H	F	Tamaulipas	-99.281167	23.013028
7545	MZFC	Northern	Cobs	S, D	F	San Luis Potosí	-99.428000	22.126000
81116	USNM	Northern	Cobs	S	M	Querétaro	-99.630278	21.135000
637	MZFC	Northern	Cobs	S, H	M	Querétaro	-99.630278	21.118056
638	MZFC	Northern	Cobs	S	M	Querétaro	-99.630278	21.118056
639	MZFC	Northern	Cobs	D	F	Querétaro	-99.630278	21.118056
640	MZFC	Northern	Cobs	S	F	Querétaro	-99.630278	21.118056
641	MZFC	Northern	Cobs	S	F	Querétaro	-99.630278	21.118056
642	MZFC	Northern	Cobs	S	F	Querétaro	-99.630278	21.118056
644	MZFC	Northern	Cobs	S, D	F	Querétaro	-99.630278	21.118056
645	MZFC	Northern	Cobs	S, H	M	Querétaro	-99.630278	21.118056
646	MZFC	Northern	Cobs	S	F	Querétaro	-99.630278	21.118056
647	MZFC	Northern	Cobs	S	M	Querétaro	-99.630278	21.118056
648	MZFC	Northern	Cobs	S, D	M	Querétaro	-99.630278	21.118056
29106	CNMA	Northern	Cobs	D	F	Querétaro	-99.654000	21.108000
9814	MZFC	Northern	Cobs	D	?	Hidalgo	-98.604722	20.991944
40914	CNMA	Northern	Cobs	D	F	Hidalgo	-98.632500	20.981944
40915	CNMA	Northern	Cobs	S, D, H	M	Hidalgo	-98.632500	20.981944
40916	CNMA	Northern	Cobs	S, D, H	F	Hidalgo	-98.632500	20.981944
40917	CNMA	Northern	Cobs	H	M	Hidalgo	-98.632500	20.981944
81126	USNM	Northern	Cobs	S	M	Hidalgo	-99.210000	20.873889
8953	MZFC	Northern	Cobs	S	M	Hidalgo	-98.229167	20.314722
10063	MZFC	Northern	Cobs	D	M	Hidalgo	-98.229167	20.314722
10087	MZFC	Northern	Cobs	D	M	Hidalgo	-98.229167	20.314722
45143	CNMA	Northern	Cobs	S, D	M	Hidalgo	-98.147500	20.107222
23412	KU	Central	Cmex	S	F	Veracruz	-97.230000	19.960000
23413	KU	Central	Cmex	S	F	Veracruz	-97.230000	19.960000
35263	CNMA	Central	Cmex	S, D	F	Veracruz	-96.923889	19.653333

29526	KU	Central	Cmex	S	M	Veracruz	-97.090000	19.630000
29527	KU	Central	Cmex	S	M	Veracruz	-97.090000	19.630000
29528	KU	Central	Cmex	S	F	Veracruz	-97.090000	19.630000
29529	KU	Central	Cmex	S	F	Veracruz	-97.090000	19.630000
29530	KU	Central	Cmex	S	M	Veracruz	-97.090000	19.630000
29533	KU	Central	Cmex	S	M	Veracruz	-97.090000	19.630000
29536	KU	Central	Cmex	S	F	Veracruz	-97.090000	19.630000
29537	KU	Central	Cmex	S	M	Veracruz	-97.090000	19.630000
29539	KU	Central	Cmex	S	M	Veracruz	-97.090000	19.630000
29540	KU	Central	Cmex	S	M	Veracruz	-97.090000	19.630000
29542	KU	Central	Cmex	S	F	Veracruz	-97.090000	19.630000
29543	KU	Central	Cmex	S	F	Veracruz	-97.090000	19.630000
29544	KU	Central	Cmex	S	M	Veracruz	-97.090000	19.630000
29551	KU	Central	Cmex	S	M	Veracruz	-97.090000	19.630000
29560	KU	Central	Cmex	S	M	Veracruz	-97.090000	19.630000
29531	KU	Central	Cmex	S	F	Veracruz	-97.090000	19.630000
919	CNMA	Central	Cmex	S, D	M	Veracruz	-97.033333	19.616667
44786	CNMA	Central	Cmex	S, D	F	Veracruz	-97.113889	19.613889
44787	CNMA	Central	Cmex	S, D, H	F	Veracruz	-97.113880	19.613888
45045	CNMA	Central	Cmex	D, H	?	Veracruz	-96.927500	19.540000
35265	CNMA	Central	Cmex	D, H	F	Veracruz	-97.100000	19.501111
29572	KU	Central	Cmex	S	F	Veracruz	-96.960000	19.140000
46465	CNMA	Central	Cmex	S, D, H	F	Veracruz	-97.237878	18.870155
46466	CNMA	Central	Cmex	S	F	Veracruz	-97.237878	18.870155
58281	USNM	Central	Cmex	S	M	Veracruz	-97.103611	18.849444
58282	USNM	Central	Cmex	S	M	Veracruz	-97.103611	18.849444
42723	CNMA	Central	Cmex	S, D	M	Veracruz	-97.335556	18.698611
42724	CNMA	Central	Cmex	S, H	F	Veracruz	-97.335556	18.698611
42725	CNMA	Central	Cmex	S, D, H	F	Veracruz	-97.335556	18.698611

42727	CNMA	Central	Cmex	D	?	Veracruz	-97.335556	18.698611
42728	CNMA	Central	Cmex	S, D, H	F	Veracruz	-97.335556	18.698611
42729	CNMA	Central	Cmex	D	F	Veracruz	-97.335556	18.698611
42731	CNMA	Central	Cmex	S, D	M	Veracruz	-97.335556	18.698611
42732	CNMA	Central	Cmex	S, D, H	M	Veracruz	-97.335556	18.698611
42743	CNMA	Central	Cmex	D, H	F	Veracruz	-97.331389	18.690278
42746	CNMA	Central	Cmex	D	F	Veracruz	-97.331389	18.690278
42749	CNMA	Central	Cmex	S, D, H	F	Veracruz	-97.331389	18.690278
42752	CNMA	Central	Cmex	D, H	?	Veracruz	-97.331389	18.690278
42774	CNMA	Central	Cmex	H	M	Veracruz	-97.331380	18.690278
42733	CNMA	Central	Cmex	S, D, H	F	Veracruz	-97.337778	18.689444
42734	CNMA	Central	Cmex	D, H	F	Veracruz	-97.337778	18.689444
42735	CNMA	Central	Cmex	D, H	F	Veracruz	-97.337778	18.689444
42736	CNMA	Central	Cmex	D	F	Veracruz	-97.337778	18.689444
42737	CNMA	Central	Cmex	D	?	Veracruz	-97.337778	18.689444
42738	CNMA	Central	Cmex	H	M	Veracruz	-97.337778	18.689444
42740	CNMA	Central	Cmex	D	F	Veracruz	-97.337778	18.689444
42741	CNMA	Central	Cmex	D	M	Veracruz	-97.337778	18.689444
42744	CNMA	Central	Cmex	S, D	M	Veracruz	-97.337778	18.689444
42745	CNMA	Central	Cmex	D, H	?	Veracruz	-97.337778	18.689444
42747	CNMA	Central	Cmex	S, D, H	F	Veracruz	-97.337778	18.689444
42748	CNMA	Central	Cmex	S, D	F	Veracruz	-97.337778	18.689444
42751	CNMA	Central	Cmex	S, D	F	Veracruz	-97.337778	18.689444
42753	CNMA	Central	Cmex	S, D, H	M	Veracruz	-97.337778	18.689444
42756	CNMA	Central	Cmex	S, D	F	Veracruz	-97.337778	18.689444
41946	CNMA	Central	Cmex	H	M	Veracruz	-97.333333	18.688611
41947	CNMA	Central	Cmex	S, H	F	Veracruz	-97.333333	18.688611
41948	CNMA	Central	Cmex	S, D	F	Veracruz	-97.333333	18.688611
41950	CNMA	Central	Cmex	S, D	M	Veracruz	-97.333333	18.688611

41951	CNMA	Central	Cmex	S, D, H	F	Veracruz	-97.333333	18.688611
41952	CNMA	Central	Cmex	H	F	Veracruz	-97.333333	18.688611
41953	CNMA	Central	Cmex	D, H	F	Veracruz	-97.333333	18.688611
41954	CNMA	Central	Cmex	S, D, H	F	Veracruz	-97.333333	18.688611
41955	CNMA	Central	Cmex	D, H	M	Veracruz	-97.333333	18.688611
42757	CNMA	Central	Cmex	D	?	Veracruz	-97.333333	18.688611
42758	CNMA	Central	Cmex	H	?	Veracruz	-97.333333	18.688611
34212	CNMA	Central	Cmex	S, D	F	Veracruz	-97.002500	18.583333
29425	CNMA	Southern	Cmex	S, D	M	Oaxaca	-96.369000	17.636000
47923	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.398111	17.591806
29470	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	M	Oaxaca	-96.490555	17.581944
32008	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	F	Oaxaca	-96.490556	17.581944
29426	CNMA	Southern	Cmex	S	F	Oaxaca	-96.447500	17.555833
29427	CNMA	Southern	Cmex	D	M	Oaxaca	-96.447500	17.555833
29428	CNMA	Southern	Cmex	S	F	Oaxaca	-96.447500	17.555833
29429	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	M	Oaxaca	-96.447500	17.555833
29430	CNMA	Southern	Cmex	H	F	Oaxaca	-96.447500	17.555833
29431	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.447500	17.555833
29432	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.447500	17.555833
29434	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.447500	17.555833
29435	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.447500	17.555833
120302	KU	Southern	Cmex	S	M	Oaxaca	-96.470000	17.550000
121412	KU	Southern	Cmex	S	F	Oaxaca	-96.500000	17.440000
121415	KU	Southern	Cmex	S	F	Oaxaca	-96.500000	17.440000
121686	KU	Southern	Cmex	S	F	Oaxaca	-96.500000	17.440000
124277	KU	Southern	Cmex	S	F	Oaxaca	-96.500000	17.440000
124274	KU	Southern	Cmex	S	F	Oaxaca	-96.340000	17.430000
49317	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.625000	17.208333
49318	CNMA	Southern	Cmex	S	M	Oaxaca	-96.625000	17.208333

49319	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.625000	17.208333
49320	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.625000	17.208333
49321	CNMA	Southern	Cmex	D	?	Oaxaca	-96.625000	17.208333
49322	CNMA	Southern	Cmex	S, D	M	Oaxaca	-96.625000	17.208333
49323	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.625000	17.208333
49324	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.625000	17.208333
49325	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	F	Oaxaca	-96.625000	17.208333
49326	CNMA	Southern	Cmex	H	M	Oaxaca	-96.626667	17.203333
49327	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	M	Oaxaca	-96.626667	17.203333
49328	CNMA	Southern	Cmex	D, H	F	Oaxaca	-96.626667	17.203333
49329	CNMA	Southern	Cmex	D	?	Oaxaca	-96.626667	17.203333
49330	CNMA	Southern	Cmex	S, H	?	Oaxaca	-96.626667	17.203333
49331	CNMA	Southern	Cmex	S	M	Oaxaca	-96.626667	17.203333
49333	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.626667	17.203333
49334	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.626667	17.203333
49335	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	F	Oaxaca	-96.626667	17.203333
49336	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.626667	17.203333
49337	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.626667	17.203333
49338	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.626667	17.203333
49339	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49340	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	F	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49341	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49342	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49343	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49344	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	M	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49345	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	M	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49346	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49347	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49348	CNMA	Southern	Cmex	S	F	Oaxaca	-96.628333	17.193611

49349	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49350	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49351	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	F	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49352	CNMA	Southern	Cmex	S	M	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49353	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49354	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49355	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49356	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49357	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49358	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49359	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.628333	17.193611
49360	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.639444	17.192778
49361	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.639444	17.192778
49362	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	M	Oaxaca	-96.639444	17.192778
49363	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.639444	17.192778
49365	CNMA	Southern	Cmex	S	M	Oaxaca	-96.639444	17.192778
49366	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.639444	17.192778
49367	CNMA	Southern	Cmex	S	F	Oaxaca	-96.639444	17.192778
49368	CNMA	Southern	Cmex	S	M	Oaxaca	-96.639444	17.192778
49369	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.639444	17.192778
49370	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49371	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49372	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	M	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49373	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49374	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	F	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49375	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	F	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49376	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49377	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	M	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49378	CNMA	Southern	Cmex	H	?	Oaxaca	-96.641667	17.191667

49379	CNMA	Southern	Cmex	H	?	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49380	CNMA	Southern	Cmex	D	F	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49381	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49382	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49383	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49384	CNMA	Southern	Cmex	S, H	M	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49385	CNMA	Southern	Cmex	S	M	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49386	CNMA	Southern	Cmex	S, D	M	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49387	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	F	Oaxaca	-96.641667	17.191667
49388	CNMA	Southern	Cmex	S	M	Oaxaca	-96.641667	17.191667
121658	KU	Southern	Cmex	S	M	Oaxaca	-96.640000	17.190000
29986	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	M	Oaxaca	-96.049444	17.181667
29988	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	F	Oaxaca	-96.049444	17.181667
29989	CNMA	Southern	Cmex	S	M	Oaxaca	-96.049444	17.181667
29991	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	F	Oaxaca	-96.049444	17.181667
29992	CNMA	Southern	Cmex	S, D	M	Oaxaca	-96.049444	17.181667
33605	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.049444	17.181667
33606	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.049444	17.181667
33607	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.049444	17.181667
34859	CNMA	Southern	Cmex	S	F	Oaxaca	-96.049444	17.181667
35260	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	F	Oaxaca	-96.049444	17.181667
35261	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.049444	17.181667
43047	CNMA	Southern	Cmex	D, H	F	Oaxaca	-96.604306	17.176500
43050	CNMA	Southern	Cmex	S, D	M	Oaxaca	-96.604306	17.176500
43051	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	F	Oaxaca	-96.604306	17.176500
43053	CNMA	Southern	Cmex	S, D	F	Oaxaca	-96.604306	17.176500
43057	CNMA	Southern	Cmex	D	F	Oaxaca	-96.604306	17.176500
43058	CNMA	Southern	Cmex	D, H	F	Oaxaca	-96.604306	17.176500
43059	CNMA	Southern	Cmex	S, H	F	Oaxaca	-96.604306	17.176500

43060	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	F	Oaxaca	-96.604306	17.176500
43061	CNMA	Southern	Cmex	S, D, H	M	Oaxaca	-96.604306	17.176500
68296	USNM	Southern	Cmex	S	F	Oaxaca	-96.604900	17.175000
68305	USNM	Southern	Cmex	S	F	Oaxaca	-96.604900	17.175000
68306	USNM	Southern	Cmex	S	F	Oaxaca	-96.604900	17.175000
29990	CNMA	Southern	Cmex	S, D	F	Oaxaca	-96.018889	17.140830
68528	USNM	Southern	Cmex	S	F	Oaxaca	-96.016667	17.133333

Table S2. Description of the landmarks used for each of the three structures (S, D, and H) analyzed in this study.

Structure	Landmark (anatomical location)
Skull	
1	Dorsal midline of foramen magnum
2	Ventral midline of foramen magnum
3	Midline of the posterior margin of the palate
4	Midline of anterior margin of premaxilla
5	Posterior margin of upper incisors
6	Posterior margin of upper incisors
7	Posterior margin of first antemolar
8	Posterior margin of second antemolar
9	Anterior most point of metastylar blade of upper fourth premolar
10	Posterior margin of second antemolar
11	Posterior most point of metastylar blade of upper fourth premolar
12	Posterior margin of fourth antemolar
13	Posterior most point of metastylar blade of upper first molar
14	Posterior most point of hypoconid of upper first molar
15	Posterior most point of metastylar blade of upper second molar
16	Posterior margin of palate at lateral junction of pterygoid process
17	Superior articular facet
18	Anterior most point of the lateral braincase

19	Lateral point of widest point of braincase
20	Lateral edge of foramen magnum
Dentary	
1	Base of first incisor (alveolus)
2	Base of antemolar
3	Premolar and molar one junction
4	Molar one and two junction
5	Molar two and three junction
6	Posterior end of toothrow
7	Anterior most point of the dorsal most point of coronoid process
8	Posterior most point of the dorsal most point of coronoid process
9	Most ventral point between coronoid and condyloid process
10	Antero-dorsal end of angular process
11	Junction between ventral side of angular process and ramus of the dentary
Humerus	
1	Upper point of medial epicondyle
2	Lower point of medial epicondyle
3	Trochlea
4	Valley between trochlea and capitulum
5	Capitulum
6	Lateral epicondyle
7	Deltoid process
8	Pectoral process
9	Deltoid process
10	Greater tuberosity
11	Junction between greater and lesser tuberosity
12	Most proximal point to the greater tuberosity of the lesser tuberosity
13	Most distal point to the greater tuberosity of the lesser tuberosity
14	Upper point of teres tubercle
15	Lower point of teres tubercle

Curve I	Margin across the length of the humerus, between the teres tubercule and medial epicondyle (thirteen semilandmarks)
Curve II	Margin of medial epicondyle (three semilandmarks)
Curve III	Margin between lower point of medial epicondyle and trochlea (six semilandmarks)
Curve IV	Margin of the trochlea and the valley between trochlea and capitulum (three semilandmarks)
Curve V	Margin of the valley between trochlea and capitulum and the capitulum (three semilandmarks)
Curve VI	Margin between capitulum and lateral epicondyle (eight semilandmarks)
Curve 7	Margin across the length of the humerus, between the lateral epicondyle and pectoral process (thirteen semilandmarks)

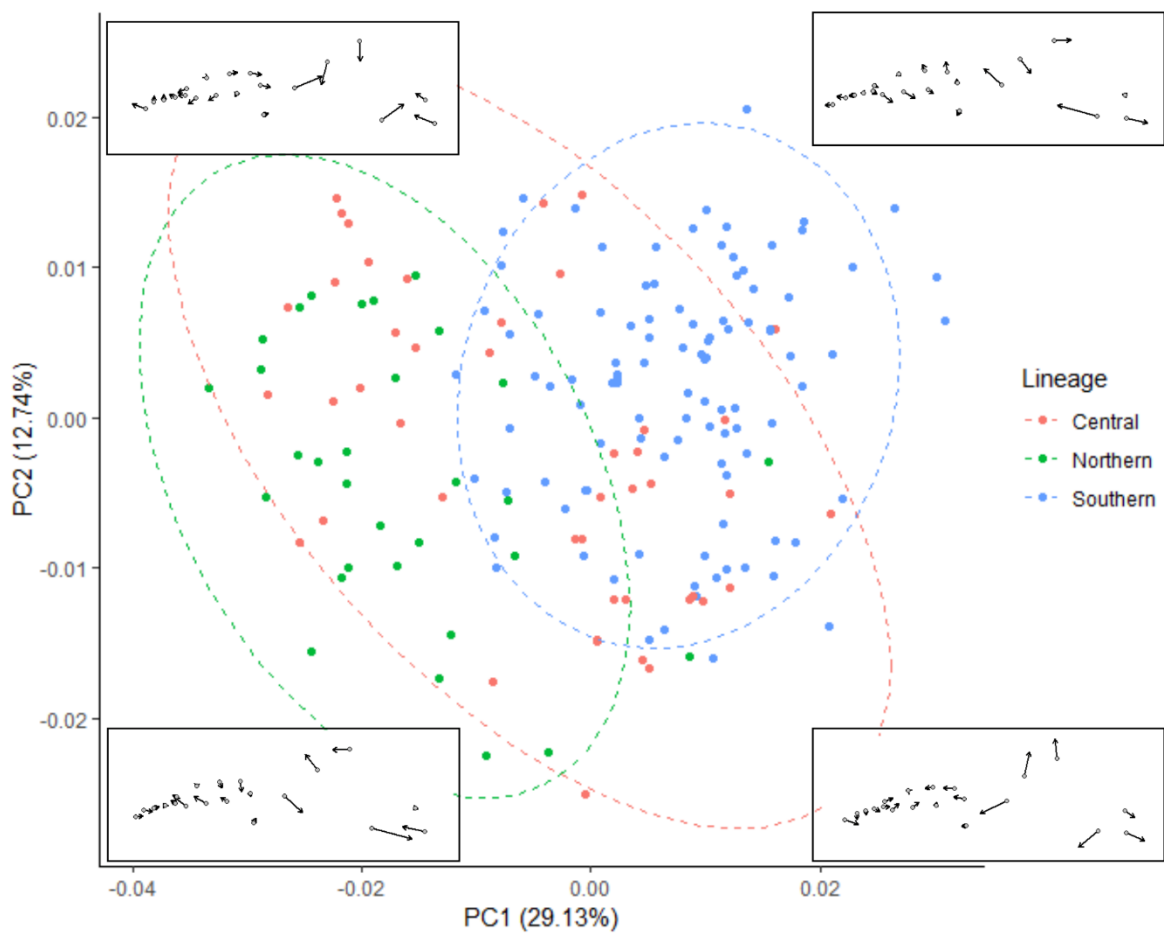


Figure S1. Plots of the 1st two principal components of the ventral view of the skull.

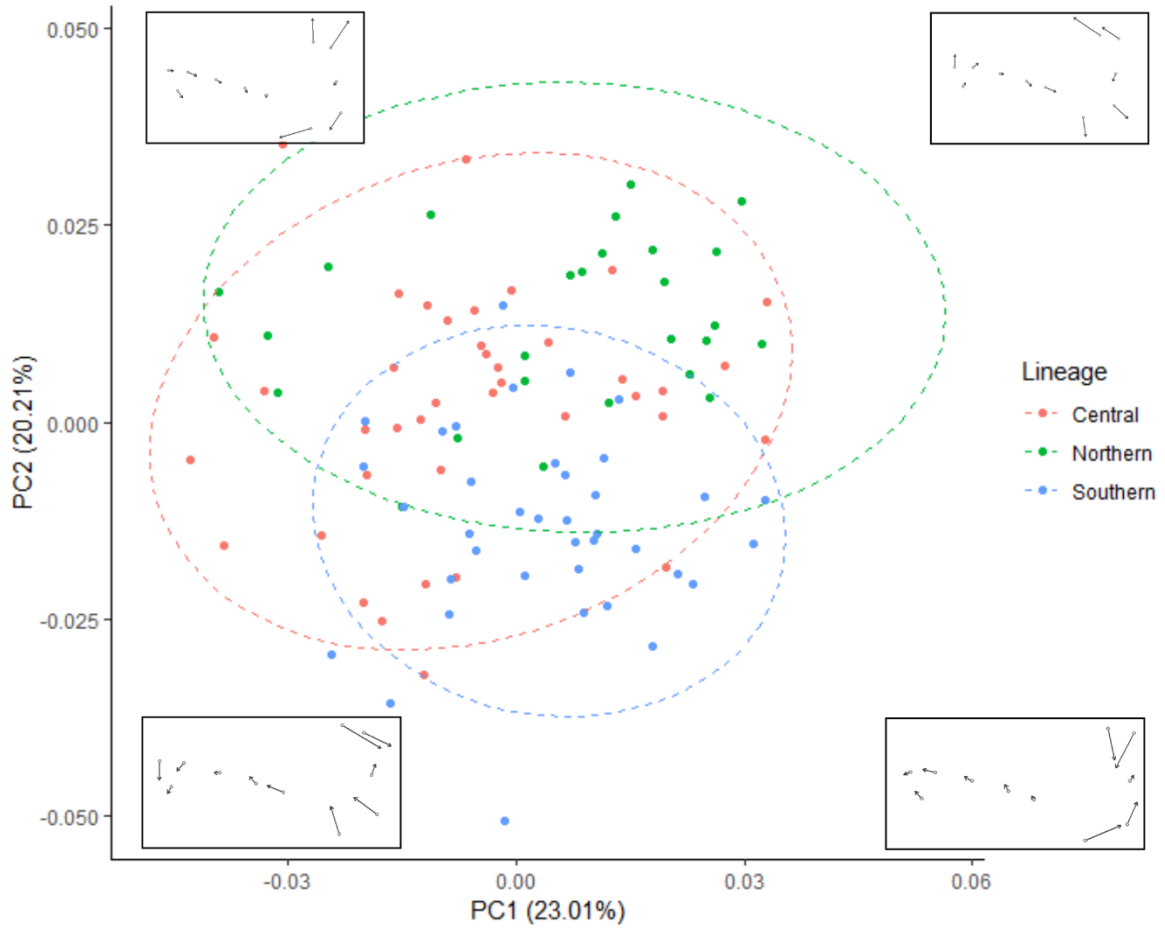


Figure S2. Plots of the 1st two principal components of the lateral view of the left dentary.

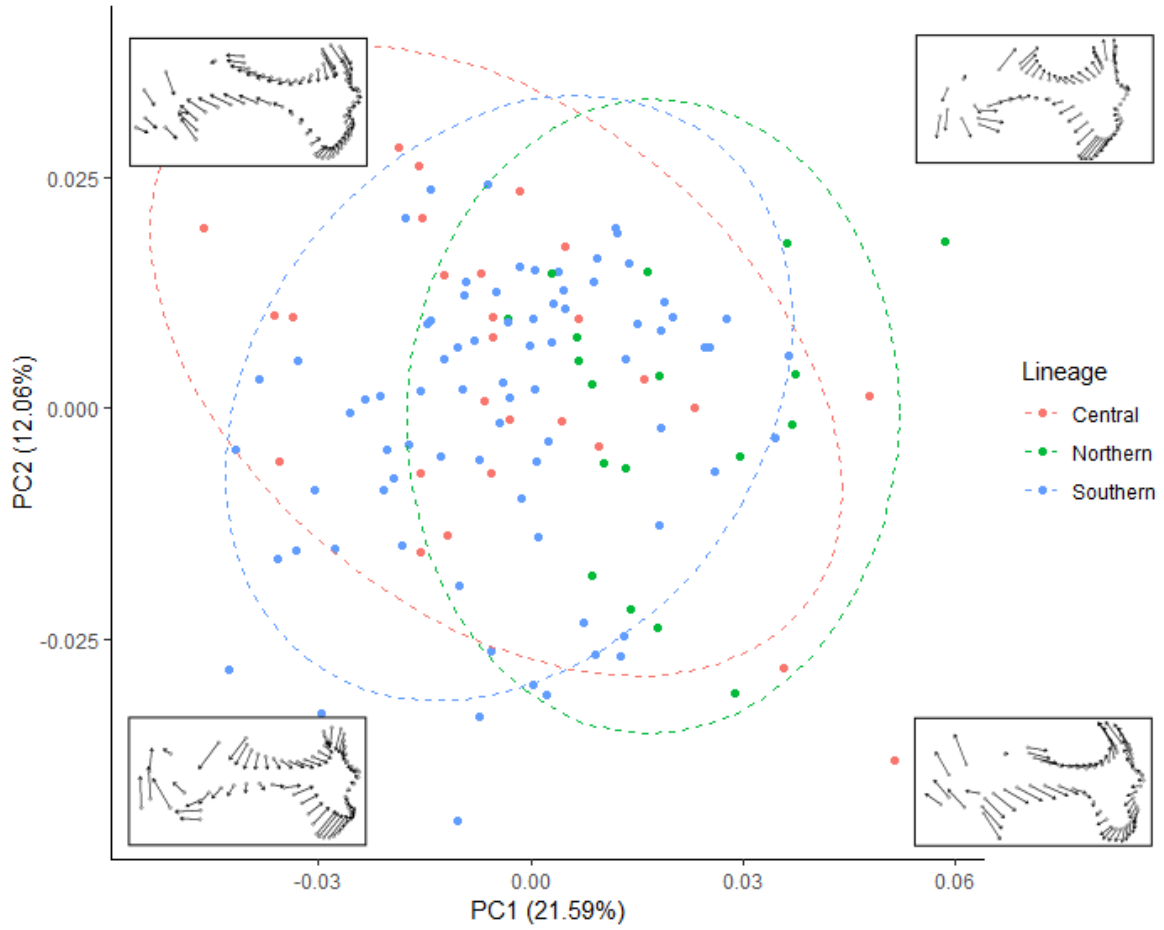


Figure S3. Plots of the 1st two principal components of the ventral view of the left humerus.

Discusión general

Morfometría geométrica y taxonomía

Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que la forma del cráneo, dentario y húmero de las musarañas estudiadas no presenta diferencias significativas entre sexos o asociadas al tamaño de las mismas de las estructuras. Para el caso del sexo, la falta de diferencias notable parece indicar que no hay dimorfismo sexual, lo cual es concordante con estudios previos para otros géneros de musarañas (Zidarova, 2015). En el caso del género *Cryptotis*, las diferencias conocidas entre los sexos han estado dadas por la diferencia en el tamaño entre machos y hembras (Choate, 1970; Woodman y Timm, 1993), pero aún no se conocía el posible efecto de la forma entre los sexos.

El estudio del tamaño es importante, pues puede brindar información sobre algunos factores que determinan la evolución o posible diferenciación de los grupos. Para el caso del factor alométrico (la relación entre el cambio de la forma y el cambio de tamaño), se encontró que el efecto es insignificante en el cambio de la forma. Sin embargo, se encontró que, en cuestión del tamaño de las estructuras, que es independiente a la forma, existen diferencias significativas en el dentario del linaje Centro respecto al resto de los linajes. Lo anterior podría estar respondiendo a diversos factores, un ejemplo de este tipo de cambios es la Regla de Bergman, en la cual se establece que hay un incremento del tamaño a lo largo de las especies conforme se alejan del Ecuador (Ashton, et al., 2000). Sin embargo, al ser puesto a prueba mediante la comparación del CS de la estructura con la latitud correspondiente a cada ejemplar, se observó que no había una correlación ($p < 0.05$). Pese a que esto se ha estudiado en diversos grupos de mamíferos, más específicamente de musarañas, como el caso de un estudio realizado con cinco especies del género *Sorex*, en dónde se encontró que solo en dos casos se cumplía dicha regla, mientras que en las restantes tres, la correlación entre latitud y tamaño corporal era inversamente proporcional (Ochocińska y Trevor, 2003), en el caso de *C. mexicanus* esto no se cumple. Por otro lado, se ha estudiado el cambio del tamaño con otras perspectivas, por ejemplo, para el género se realizó un trabajo con *C. goodwini* en el que se buscaban las causas del cambio de tamaño, encontrándose que más allá de la regla de Bergman, podría tratarse más bien a la respuesta como cambio a otros factores como cambios en los tamaños de la comunidad de presas (e.g., lombrices de tierra; Woodman, 2005). Otro ejemplo de cambio de tamaño como

respuesta a otros factores es el caso del análisis de tres especies del género *Sorex* realizado por Vasil'ev y colaboradores (2015), en el cuál encontraron que, si bien había una diferencia entre los ejemplares más norteños y los más sureños en las tres especies, les atribuyen dicha diferencia a las características climáticas, así como a la comunidad de insectos que coexisten con las diferentes poblaciones de musarañas.

En el caso de las variables climáticas, se encontró que existen diferencias significativas en el ambiente únicamente para el caso del dentario, contrastante con reportado por Guevara y Sánchez-Cordero (2018), que habían encontrado similitudes climáticas entre las poblaciones, sin embargo, señalaron la separación de los grupos por barreras geográficas como los ríos Santo Domingo, Moctezuma y Amajac. En el caso de las especies de mamíferos pequeños el ambiente es un factor determinante, ya que se ha observado que, al estar sujetos a microhábitats, o al vivir en poblaciones aisladas con condiciones específicas, este puede dirigir la evolución y los cambios entre especies o poblaciones (Hu, et al., 2017; Niedziałkowska, et al., 2010). Esta afirmación ha sido soportada por el grupo de musarañas polacas del género *Neomys*, en las cuáles se encontró que factores climáticos, así como de competencia (al tener especies simpátricas) modelan la forma y tamaño de las estructuras (Rychlik, et al., 2006).

Por lo anterior, resulta relevante el estudio a profundidad del ambiente como un factor determinante en la evolución del grupo, pues esto podría aportar información sobre la diversificación y adaptación de las especies a los ambientes cambiantes. Es probable que, la exploración de variables con mayor impacto en la biología del organismo, como lo pueden ser las características fisicoquímicas del suelo (al ser organismos semifosoriales), así como características de los insectos de los que se alimentan (al ser insectívoras) como el tamaño y la dureza de éstos, nos permita tener un mejor entendimiento de la historia de este grupo de musarañas.

Finalmente, de las tres estructuras analizadas, el dentario resultó ser la que tuvo diferencias significativas entre los grupos con un mayor número de variables, pues en el caso de las diferencias entre los grupos dado el tamaño (sin considerar la forma), se observó que el linaje Centro se diferenciaba del resto. Además, fue la única estructura que mostró correlación con las variables ambientales. Los resultados anteriores evidencian que, en

dicha estructura, tanto en la forma como en el tamaño, hay cambios a lo largo de las poblaciones que permite diferenciarlas. El dentario resulta ser taxonómicamente informativo dentro de la familia Soricidae, pues en muchos casos, las diferencias específicas resultan de la descripción de caracteres dentales en la mandíbula (Carraway, 2007). Todo esto nos hace pensar que el dentario está respondiendo a las diferencias que existen entre las poblaciones aisladas, que están funcionando como tres linajes independientes, lo cual hace que la atención deba enfocarse en el estudio de la función y el papel de esta estructura para el grupo y buscar caracteres que permitan la determinación taxonómica de cada uno de los grupos sugeridos. Un ejemplo que estudia el cambio en dicha estructura con musarañas corresponde al realizado con las mandíbulas del género *Sorex* en donde se encontró que, bajo condiciones de estrés, es posible inducir cambios en la morfología de la mandíbula (Badyaev y Foresman, 2000).

Implicaciones taxonómicas

Los resultados morfométricos pusieron a prueba los tres linajes propuestos molecularmente, logrando recuperarlos en las tres estructuras analizadas. Con los resultados obtenidos, así como la evidencia molecular y respaldado por la compleja historia taxonómica del grupo se pueden diferenciar tres linajes separados por barreras geográficas.

El nombre de *Cryptotis mexicanus* correspondería a las poblaciones más norteñas del grupo y delimitado al sur por la Faja Volcánica Transmexicana. A este mismo grupo pertenecen las poblaciones conocidas como *C. obscurus*, por lo cual dicho nombre pasaría a ser un sinónimo junior de *C. mexicanus*. Por otro lado, el linaje Centro corresponde a las poblaciones entre el Pico de Orizaba y el Río Santo Domingo y están pendientes de nombramiento. Finalmente, el linaje Sur, también pendiente de nombre, abarca las poblaciones desde el norte de Oaxaca hasta la distribución más sureña del grupo. Se espera que la compilación de la información morfológica, genética y ecológica reunida hasta la fecha permita la descripción apropiada de los linajes detectados.

Conclusiones

La morfometría geométrica del cráneo, dentario y húmero permiten recuperar los tres linajes propuestos molecularmente: Norte, Centro y Sur.

En el caso del dentario, se encontró que existe una diferencia significativa de tamaño (siendo de menor tamaño el linaje Centro). Se encontró, además, que existe correlación entre la forma y las variables climáticas.

Con los resultados morfológicos del presente trabajo, así como la propuesta taxonómica de Vázquez-Ponce y colaboradores (2021), se propone la existencia de tres linajes en el grupo *Cryptotis mexicanus*-*C. obscurus*, teniendo los límites de la siguiente manera:

- Norte: desde Tamaulipas hasta la región este de la Faja Mexicana Transmexicana.
- Centro: entre el Pico de Orizaba y el Río Santo Domingo
- Sur: desde el norte de Oaxaca hasta la distribución más sureña, la cual está pendiente de analizarse si corresponde al Istmo de Tehuantepec o a las poblaciones al este de este.

Taxonómicamente, el nombre *Cryptotis mexicanus* correspondería al linaje Norte, mientras que *C. obscurus* pasaría a ser un sinónimo de éste. Los linajes Centro y Sur están pendientes de ser nombradas.

Referencias bibliográficas

- Adams, D. C., Rohlf, F. J., y Slice, D. E. (2004). Geometric morphometrics: Ten years of progress following the ‘revolution.’ *Italian Journal of Zoology*, 71(1), 5–16.
<https://doi.org/10.1080/11250000409356545>
- Álvarez, A., Ercoli, M. D., y Prevosti, F. J. (2013). Locomotion in some small to medium-sized mammals: A geometric morphometric analysis of the penultimate lumbar vertebra, pelvis and hindlimbs. *Zoology*, 116(6), 356–371.
<https://doi.org/10.1016/j.zool.2013.08.007>
- Ashton, K. G., Tracy, M. C., y De Queiroz, A. (2000). Is Bergmann’s rule valid for mammals? *American Naturalist*, 156(4), 390–415. <https://doi.org/10.1086/303400>
- Badyaev, A. V., y Foresman, K. R. (2000). Extreme environmental change and evolution: Stress-induced morphological variation is strongly concordant with patterns of evolutionary divergence in shrew mandibles. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 267(1441), 371–377. <https://doi.org/10.1098/rspb.2000.1011>
- Barčiová, L. (2009). Advances in insectivore and rodent systematics due to geometric morphometrics. *Mammal Review*, 39(2), 80–91. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2009.00139.x>
- Bookstein, F. L. (1984). A statistical method for biological shape comparisons. *Journal of Theoretical Biology*, 107(3), 475–520. [https://doi.org/10.1016/S0022-5193\(84\)80104-6](https://doi.org/10.1016/S0022-5193(84)80104-6)
- Burgin, C. J., Colella, J. P., Kahn, P. L., y Upham, N. S. (2018). How many species of mammals are there? *Journal of Mammalogy*, 99(1), 1–14.
<https://doi.org/10.1093/jmammal/gyx147>
- Calahorra-Oliart, A., Ospina-Garcés, S. M., y León-Paniagua, L. (2021). Cryptic species in *Glossophaga soricina* (Chiroptera: Phyllostomidae): do morphological data support molecular evidence? *Journal of Mammalogy*, 102(1), 54–68.
<https://doi.org/10.1093/jmammal/gyaa116>
- Camargo, I., Álvarez-Castañeda, S. T., Polly, P. D., Stuhler, J. D., y Maldonado, J. E. (2022). Molecular phylogenetic and taxonomic status of the large-eared desert shrew

- Notiosorex evotis* (Eulipotyphla: Soricidae). *Journal of Mammalogy*, 103(6), 1422–1430. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyac069>
- Carraway, L. N. (2007). Shrews (Eulipotyphla: Soricidae) of Mexico. *Monographs of the Western North American Naturalist*, 3(2007), 1–91.
- Choate, J. (1970). Systematics and zoogeography of middle American shrews of the genus *Cryptotis*. *University of Kansas Publications*, 19(3), 195–317. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0745-7_246
- Choate, J. (1973). *Cryptotis mexicana*. *Journal of Mammalogy*, 40(4), 591–594.
- Cornette, R., Tresset, A., y Herrel, A. (2015). The shrew tamed by Wolff's law: Do functional constraints shape the skull through muscle and bone covariation? *Journal of Morphology*, 276(3), 301–309. <https://doi.org/10.1002/jmor.20339>
- Coues, E. (1877). Precursory notes on American insectivorous mammals, with description of a new species. *Bulletin of the United States Geologic and Geographical Survey of the Territories*, III (3), 631–653.
- Ekdale, E. G. (2016). Morphological variation among the inner ears of extinct and extant baleen whales (Cetacea: Mysticeti). *Journal of Morphology*, 277(12), 1599–1615. <https://doi.org/10.1002/jmor.20610>
- García, F. J., y Del Valle Alvarez, M. R. (2022). Morphological variation in bony structures of *Hylaeamys seuanezi* (Rodentia, Cricetidae, Sigmodontinae) in Southern Bahia, Brazil. *Mammalia*, 86(1), 88–102. <https://doi.org/10.1515/mammalia-2021-0070>
- García, F. J., y Sánchez-González, Ivira. (2013). Morfometría geométrica craneal en tres especies de roedores arborícolas neotropicales (Rodentia: Cricetidae: *Rhipidomys*) en Venezuela. *Therya*, 4(1), 157–178. <https://doi.org/10.12933/therya-13-101>
- Gardner, A. L. (2005). Case 3328 *Didelphis* Linnaeus, 1758 (Mammalia, Didelphidae): proposed correction of gender, and *Cryptotis* Pomel, 1848 (Mammalia, Soricidae): proposed fixation of gender. *Bulletin of Zoological Nomenclature*, 62(September), 142–145.

- George, G. (1954). A New Short-tailed Shrew and a New Free-tailed Bat from Tamaulipas, Mexico. *American Museum Novitates*, 1670.
- Girdlestone, C. D., Ng, J., Kössl, M., Caplot, A., Shadwick, R. E., y Morell, M. (2020). Correlating Cochlear Morphometrics from Parnell's Mustached Bat (*Pteronotus parnellii*) with Hearing. *JARO - Journal of the Association for Research in Otolaryngology*, 21(5), 425–444. <https://doi.org/10.1007/s10162-020-00764-1>
- Guevara, L. (2017). Ellas pueden excavar: hábitos semifosoriales de la musaraña mexicana de orejas cortas (Mammalia: *Cryptotis mexicanus*). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(4), 1003–1005. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.10.012>
- Guevara, L. (2019). Paleodistribution modelling for planning the growth of natural history collections. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 90.
- Guevara, L., y Cervantes, F. A. (2014). Molecular systematics of small-eared shrews (Soricomorpha, Mammalia) within *Cryptotis mexicanus* species group from Mesoamérica. *Acta Theriologica*, 59(2), 233–242. <https://doi.org/10.1007/s13364-013-0165-6>
- Guevara, L., Cervantes, F. A., y Sánchez-Cordero, V. (2015). Riqueza, distribución y conservación de los topos y las musarañas (Mammalia, Eulipotyphla) de México. *Therya*, 6(1), 43–68. <https://doi.org/10.12933/therya-15-211>
- Guevara, L., y Sánchez-Cordero, V. (2018). Patterns of morphological and ecological similarities of small-eared shrews (Soricidae, *Cryptotis*) in tropical montane cloud forests from Mesoamerica. *Systematics and Biodiversity*, 16(6), 551–564. <https://doi.org/10.1080/14772000.2018.1470582>
- Hu, Y., Jin, K., Huang, Z., Ding, Z., Liang, J., Pan, X., Hu, H., y Jiang, Z. (2017). Elevational patterns of non-volant small mammal species richness in Gyirong Valley, Central Himalaya: Evaluating multiple spatial and environmental drivers. *Journal of Biogeography*, 44(12), 2764–2777. <https://doi.org/10.1111/jbi.13102>
- Hulme-Beaman, A., Cucchi, T., Evin, A., Searle, J. B., y Dobney, K. (2018). Exploring *Rattus praetor* (Rodentia, Muridae) as a possible species complex using geometric

- morphometrics on dental morphology. *Mammalian Biology*, 92, 62–67.
<https://doi.org/10.1016/j.mambio.2018.04.002>
- Jacquet, F., Hutterer, R., Nicolas, V., Decher, J., Colyn, M., Couloux, A., y Denys, C. (2013). New status for two African giant forest shrews, *Crocidura goliath goliath* and *C. goliath nimbasilvanus* (Mammalia: Soricomorpha), based on molecular and geometric morphometric analyses. *African Zoology*, 48(1), 13–29.
<https://doi.org/10.1080/15627020.2013.11407565>
- Klingenberg, C. P. (2016). Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Development Genes and Evolution*, 226(3), 113–137.
<https://doi.org/10.1007/s00427-016-0539-2>
- Maestri, R., Monteiro, L. R., Fornel, R., de Freitas, T. R. O., y Patterson, B. D. (2018). Geometric morphometrics meets metacommunity ecology: environment and lineage distribution affects spatial variation in shape. *Ecography*, 41(1), 90–100.
<https://doi.org/10.1111/ecog.03001>
- Magnus, L. Z., Machado, R. F., y Cáceres, N. (2018). The environment is a major driver of shape and size variation in widespread extant xenarthrans. *Mammalian Biology*, 89, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2017.12.007>
- Marcus, E., Hingst-Zaher, E., y Zaher, H. (2000). Application of landmark morphometrics to skulls representing the orders of living mammals. *Hystrix*, 11(1), 27–47.
<http://www.italian-journal-of-mammalogy.it/article/view/4135%5Cnhttp://www.italian-journal-of-mammalogy.it/index.php/hystrix/article/viewArticle/4135>
- Matthews, T., y Stynder, D. D. (2011). An analysis of two *Myosorex species* (Soricidae) from the Early Pliocene site of Langebaanweg (West coast, South Africa) using geometric morphometrics, linear measurements, and non-metric characters. *Geobios*.
<https://doi.org/10.1016/j.geobios.2010.07.003>
- Meloro, C., Cáceres, N., Carotenuto, F., Passaro, F., Sponchiado, J., Melo, G. L., y Raia, P. (2014). Ecogeographical variation in skull morphometry of howler monkeys (Primates: Atelidae). *Zoologischer Anzeiger*, 253(4), 345–359.
<https://doi.org/10.1016/j.jcz.2013.11.002>

- Merriam, H., y Miller, G. (1895). Revision of the shrews of the american genera *Blarina* and *Notiosorex*. North American Fauna, 10.
- Miller. (1912). List of North American land mammals in the United States National Museum, 1911. Bulletin of the United States National Museum, 79.
- Niedziałkowska, M., Koczek, J., Czarnomska, S., y Jdrzejewska, B. (2010). Species diversity and abundance of small mammals in relation to forest productivity in Northeast Poland. *Ecoscience*, 17(1), 109–119. <https://doi.org/10.2980/17-1-3310>
- Ochocińska, D., y Taylor, J. R. E. (2003). Bergmann's rule in shrews: Geographical variation of body size in Palearctic *Sorex* species. *Biological Journal of the Linnean Society*, 78(3), 365–381. <https://doi.org/10.1046/j.1095-8312.2003.00150.x>
- Pérez, S. I., Bernal, V., y Gonzalez, P. N. (2006). Differences between sliding semi-landmark methods in geometric morphometrics, with an application to human craniofacial and dental variation. *Journal of Anatomy*, 208(6), 769–784. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2006.00576.x>
- Ramírez-Pulido, J., Castillo-Morales, A., Salame-Méndez, A., y Castro-Campillo, A. (2004). Características morfológicas y morfométricas de cinco especies de *Cryptotis* (Mammalia: Soricomorpha). *Acta Zoológica Mexicana (Nueva Serie)*, 20(2), 9–37.
- Rohlf, F. J., y Slice, D. (1990). Extensions of the procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, 39(1), 40–59. <https://doi.org/10.2307/2992207>
- Rohlf, F. J. (1999). Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *Journal of Classification*, 16(2), 197–223. <https://doi.org/10.1007/s003579900054>
- Rohlf, F. J. (2000). Statistical power comparisons among alternative morphometric methods. *American Journal of Physical Anthropology*, 111(4), 463–478. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(200004\)111:4<463::AID-AJPA3>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(200004)111:4<463::AID-AJPA3>3.0.CO;2-B)
- Rychlik, L., Ramalhinho, G., y Polly, P. D. (2006). Response to environmental factors and competition: Skull, mandible and tooth shapes in Polish water shrews (*Neomys*,

- Soricidae, Mammalia). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 44(4), 339–351. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.2006.00374.x>
- Saeedzadeh, S., Mehdipour, A., Darvish, J., Aliabadian, M., y Mahmoudi, A. (2017). New look at the con-specificity of the two shrews, *Crocidura gmelini* and *C. suaveolens* from Iran; geometric morphometrics approach. *Biology Bulletin*, 13(2), 237–246. <https://doi.org/10.22067/ijab.v13i2.51950>
- Shchipanov, N. A., Sycheva, V. B., y Tumasyan, F. A. (2016). Morphometric distances and population structuring in the common shrew *Sorex araneus* L. (Lipotyphla: Soricidae). *Biology Bulletin*, 43(5), 437–449. <https://doi.org/10.1134/S1062359016050101>
- Shchipanov, N. A., Voyta, L. L., Bobretsov, A. V., y Kuprianova, I. F. (2014). Intra-species structuring in the common shrew *Sorex araneus* (Lipotyphla: Soricidae) in European Russia: Morphometric variability could give evidence of limitation of interpopulation migration. *Russian Journal of Theriology*, 13(2), 119–140. <https://doi.org/10.15298/rusjtheriol.13.2.08>
- Vasil'ev, A. G., Vasil'eva, I. A., & Kourova, T. P. (2015). Analysis of coupled geographic variation of three shrew species from Southern and Northern Ural taxocenes. *Russian Journal of Ecology*, 46(6), 552–558. <https://doi.org/10.1134/S1067413615060223>
- Vázquez-Ponce, F. J., Hernández-Canchola, G., Jiménez-Marín, A., y Guevara, L. (2021). Divergencia genética en musarañas (Mammalia, Soricidae) de los bosques húmedos de montaña al norte del Neotrópico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 923781.
- Weisbecker, V. (2012). Distortion in formalin-fixed brains: Using geometric morphometrics to quantify the worst-case scenario in mice. *Brain Structure and Function*, 217(2), 677–685. <https://doi.org/10.1007/s00429-011-0366-1>
- Woodman, N. (2005). Size evolution in Goodwin's small-eared shrew, *Cryptotis goodwini* (Mammalia: Soricomopha: Soricidae). In *Advances in the biology of shrews* (Vol. 1, pp. 125–138).

- Woodman, N. (2010). Two new species of shrews (Soricidae) from the western highlands of Guatemala. *Journal of Mammalogy*, 91(3), 566–579. <https://doi.org/10.1644/09-MAMM-A-346.1>
- Woodman, N. (2018). American Recent Eulipotyphla: Nesophontids, Solenodons, Moles, and Shrews in the New World. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 650, iv–107. <https://doi.org/10.5479/si.1943-6696.650>
- Woodman, N., y Gaffney, S. A. (2014). Can they dig it? Functional morphology and semifossoriality among small-eared shrews, genus *Cryptotis* (Mammalia, Soricidae). *Journal of Morphology*, 275(7), 745–759. <https://doi.org/10.1002/jmor.20254>
- Woodman, N., y Timm, R. (1993). Interspecific and intraspecific variation in the *Cryptotis nigriscens* species complex of Small-eared Shrews (Insectivora: Soricidae), with the description of a new species from Colombia. *Zoology*, 74(74), 1–30.
- Woodman, N., y Timm, R. M. (1999). Geographic variation and evolutionary relationships among broad-clawed shrews of the *Cryptotis goldmani*-group (Mammalia, Insectivora, Soricidae) / Neal Woodman, Robert M. Timm. *Geographic Variation and Evolutionary Relationships among Broad-Clawed Shrews of the Cryptotis Goldmani-Group (Mammalia, Insectivora, Soricidae)* / Neal Woodman, Robert M. Timm., 91. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.2669>
- Woodman, N., y Timm, R. M. (2017). A new species of small-eared shrew in the *Cryptotis thomasi* species group from Costa Rica (Mammalia: Eulipotyphla: Soricidae). *Mammal Research*, 62(1), 89–101. <https://doi.org/10.1007/s13364-016-0289-6>
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., y Sheets, H. D. (2012). Geometric Morphometrics for Biologists. In *Geometric Morphometrics for Biologists*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-386903-6.00015-0>
- Zidarova, S. (2015). Is there sexual size dimorphism in shrews? A case study of six European species of the family Soricidae. *Acta Zoologica Bulgarica*, 67(1), 19–34.
- Zúñiga-Reinoso, Á., y Benítez, H. A. (2015). The overrated use of the morphological cryptic species concept: An example with *Nyctelia darkbeetles* (Coleoptera: Tenebrionidae)

using geometric morphometrics. *Zoologischer Anzeiger*, 255, 47–53.
<https://doi.org/10.1016/j.jcz.2015.01.004>