VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Evaluación de un bioensayo terrestre con cochinillas de humedad (*Porcellio scaber*) expuestas a un aditivo químico del caucho vehicular

Evaluation of a terrestrial bioassay with woodlice (*Porcellio scaber*) exposed to a chemical additive of vehicle rubber

Nancy P. Ayala Mejia[1], Teresa de Jesús M. López Estrada[1], María Lucero Sandoval Sánchez[1], José Roberto Zamora Bedolla[2], Juan Antonio Ramírez Vázquez[3], Omar Cruz Santiago[3]*

[1]Licenciatura en Ingeniería Ambiental, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajauato
[2]Posgrado en Biociencias, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajato
[3]Departamento de Ciencias Ambientales, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universida de Guanajuato
*E-mail: o.cruz@ugto.mx

Resumen

La contaminación ambiental derivada de actividades antropogénicas ha incrementado la presencia de contaminantes emergentes con potencial riesgo para los ecosistemas y la salud humana. La 6PPD-quinona (6PPD-Q), es producto de la transformación del antioxidante 6PPD utilizado en neumáticos, que ha mostrado elevada toxicidad en organismos acuáticos. Sin embargo, sus efectos en especies terrestres aún siguen siendo poco conocidos. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de la 6PPD-Q sobre el comportamiento de *Porcellio scaber* como organismo modelo en ecotoxicología terrestre. Organismos adultos fueron expuestos durante 96 horas a concentraciones de 10 y 1000 µg/kg de 6PPD-Q. Posteriormente, los parámetros locomotores fueron evaluados mediante seguimiento por videos utilizando LoliTrack v.5.0. Los resultados no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos para la velocidad, aceleración y distancia recorrida. Bajo las condiciones experimentales evaluadas, la 6PPD-Q no produjo efectos agudos evidentes sobre la supervivencia ni la actividad locomotora de *P. scaber*. Sin embargo, las características del sustrato empleado y la disminución de humedad durante el ensayo representan factores que deben considerarse en futuras investigaciones. Estos resultados aportan información preliminar sobre la respuesta de isópodos terrestres frente a la exposición a 6PPD-Q y resaltan la necesidad de más estudios, sobre todo, con condiciones ambientales representativas para una mejor evaluación de su riesgo ecológico.

Palabras clave: Comportamiento, ecotoxicidad, 6PPD-Q

Introducción

Los contaminantes emergentes (CE) constituyen un grupo diverso de contaminantes que, a pesar de encontrarse presentes en el ambiente, muchos de ellos aún no se encuentran ampliamente monitoreados ni regulados, debido al conocimiento limitado sobre su ocurrencia, comportamiento y efectos. Entre ellos se incluyen los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCP), los disruptores endocrinos (EDC), las sustancias perfluoroalquiladas y polifluoroalquiladas (PFAS), así como aditivos químicos de neumáticos (Richardson, 2009). La presencia de estos contaminantes en las diferentes matrices ambientales representa un desafío para la investigación científica, debido a su persistencia y a la limitada capacidad de los tratamientos convencionales para eliminarlos. Además, muchos de estos compuestos permanecen durante largos periodos en el ambiente y pueden bioacumularse a lo largo de la cadena alimentaria, lo que incrementa los riesgos potenciales para los ecosistemas y la salud humana a largo plazo (Satyanarayana et al., 2023).

El N-(1,3-dimetilbutil)-N′-fenil-p-fenilendiamina (6PPD) es un antioxidante ampliamente utilizado en la fabricación de neumáticos para prevenir su degradación por la acción del ozono y prolongar su vida útil. Al reaccionar con el ozono atmosférico, el 6PPD se transforma en 6PPD-quinona (6PPD-Q), un compuesto que, recientemente, fue identificado como un contaminante peligroso, debido a que causaba la mortalidad aguda del salmón coho en el noroeste de Estados Unidos (Tian et al., 2021). A partir de ese descubrimiento, la comunidad científica consideró a la 6PPD-Q como un contaminante emergente debido a su detección en

escorrentías urbanas y aguas superficiales, así como por su elevada toxicidad para organismos acuáticos (Challis et al., 2021). Desde entonces, el número de estudios enfocados en su presencia, comportamiento ambiental y efectos toxicológicos ha aumentado considerablemente (Li et al., 2024; Kazmi et al., 2024).

La mayor evidencia sobre la presencia de 6PPD-Q se ha realizado para ecosistemas acuáticos. Así, se ha registrado su detección en aguas superficiales, escorrentías urbanas y sedimentos, así como su toxicidad en organismos como peces, crustáceos, moluscos y algas. Algunas investigaciones han demostrado efectos causados por el 6PPD-Q, entre los cuales se encuentran el estrés oxidativo, la mortalidad aguda, alteraciones en el metabolismo y cambios en el comportamiento. Despertando una creciente preocupación por los efectos nocivos que pueda generar sobre la biodiversidad y el equilibrio de los ecosistemas acuáticos (Kazmi et al., 2024; Li et al., 2025).

Por otro lado, el conocimiento que se tiene acerca de los efectos causados por el 6PPD-Q en organismos terrestres permanece limitado. Las investigaciones realizadas han empleado principalmente ratones, algunos invertebrados, microorganismos y algunas especies vegetales como organismos experimentales, en los cuales se han observado alteraciones como estrés oxidativo, daño multiorgánico y cambios metabólicos. Sin embargo, la información disponible aún no es suficiente para comprender su persistencia, bioacumulación, mecanismos de toxicidad y riesgo ecológico en ecosistemas terrestres. Es así como distintos autores destacan la necesidad y urgencia de realizar y ampliar investigaciones sobre este contaminante, particularmente en organismos terrestres y bajo exposición crónica, con el objetivo de comprender sus efectos ambientales y contribuir al desarrollo de estrategias y soluciones para su monitoreo y gestión (Jiang et al., 2024; Li et al.,

Porcellio scaber (cochinilla de humedad, Fig. 1) es uno de los organismos utilizados en ecotoxicología terrestre, ya que destaca por su amplia distribución territorial, facilidad de mantenimiento en condiciones de laboratorio, sensibilidad a diversos contaminantes y su función como descomponedor de la materia orgánica y reciclador de nutrientes (Drobne, 1997; Loureiro et al., 2006). Gracias a estas características, *P. scaber* se ha consolidado como un organismo modelo para la evaluación de la calidad del suelo. Con base en lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos de la 6PPD-Q sobre el comportamiento de *P. scaber*, con el fin de aportar información sobre los posibles impactos de este contaminante emergente en organismos terrestres y contribuir a una mejor evaluación de su riesgo ecológico.



Figura 1. Adulto de *Porcellio scaber* (cochinilla de humedad)

Metodología

Adquisición y aclimatación de *P. scaber*

Se utilizaron isópodos adultos de cochinillas de humedad *Porcellio scaber* (1.0-1.1 cm de longitud), adquiridos del proveedor AMRO (San Francisco del Rincón, Guanajuato, México). Los isópodos llegaron en envases de plástico con sustrato de mantenimiento que incluía hojarasca de encino, peat moss turba oscura con pH estabilizado y sustrato preparado para isópodos y detritívoros. Posteriormente, los organismos fueron transportados al laboratorio y sometidos a un periodo de aclimatación de aproximadamente cuatro meses en peceras de vidrio, donde se separaron por categoría de desarrollo (adultos, juveniles y neonatos) para evitar competencia y canibalismo. El sustrato de mantenimiento consistió en una mezcla de peat moss, sustrato comercial para isópodos y hojarasca de encino seca. Los organismos fueron alimentados sin restrición con manzana fresca (cortada en trozos pequeños) y una dieta mixta comercial para detritívoros, renovada cada

2–3 días. La humedad se mantuvo mediante rociado diario de agua potable, evitando encharcamiento. Los envases se mantuvieron a temperatura ambiente de laboratorio y bajo fotoperiodo natural de 12:12 h (luz:oscuridad), considerando el comportamiento fotofóbico de la especie.

Para el bioensayo se seleccionaron exclusivamente organismos adultos aparentemente sanos, activos y de tamaño similar, con un total de 48 individuos.

Diseño experimental

El diseño del bioensayo se basó en la Prueba No. 232 de la OECD Collembolan Reproduction Test in Soil (OCDE, 2016), dado que no existen guías metodológicas específicas para *P. scaber*. La selección de las concentraciones de exposición se fundamentó en estudios previos realizados con lombrices de tierra (*Eisenia fetida*) expuestas a 6PPD-Q (Zhou et al., 2025).

Se establecieron cuatro tratamientos: control, control solvente (metanol), 10 µg/kg y 1000 µg/kg de 6PPD-Q. Cada tratamiento contó con tres réplicas, y cada réplica albergó cuatro isópodos adultos, para un total de 48 organismos distribuidos en doce unidades experimentales (frascos de vidrio de 300 mL, Fig. 2). La duración de la exposición fue de 96 horas, con registros de letalidad cada 24 horas.

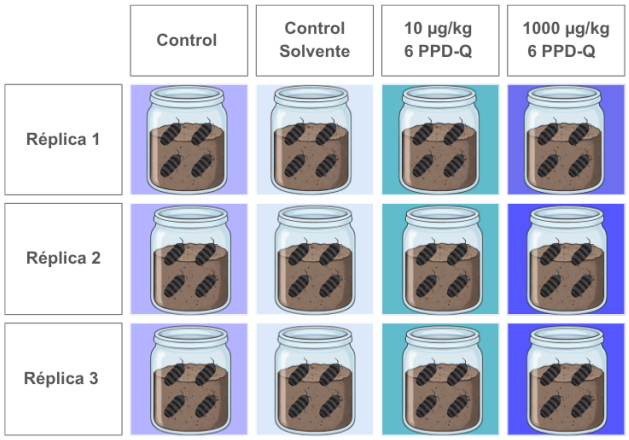


Figura 2. *Diseño experimental para el bioensayo con P. scaber*

Preparación de suelos

Se utilizó suelo artificial OECD como matriz de exposición. La composición del suelo fue: 5 % de peat moss, 20 % de arcilla caolín, y 75 % de arena de cuarzo. El pH del suelo se verificó con un medidor de pH, registrando un valor entre 6.0-6.5, por lo que no fue necesario realizar ajustes con carbonato de calcio ($CaCO_3$). La humedad del suelo se estableció entre 40 y 60 %, verificada con un medidor de humedad; manteniendose húmedo pero sin encharcamiento ni apariencia lodosa.

Prueba de retención de agua. Para determinar la capacidad de retención hídrica del suelo OECD preparado, se pesaron 99 g de suelo y se agregó agua destilada en volúmenes de 10 mL, mezclando hasta alcanzar la saturación y crear un efecto espejo en la superficie, lo cual ocurrió con un volumen total de 35 mL. El suelo saturado se secó en estufa a 60 °C durante 24 horas y se volvió a pesar. El peso final del suelo seco fue de 96.088 g, lo que correspondió a una retención de agua de 2.912 g (~2.94 %).

Se preparó un lote total de 1.2 kg de suelo OECD. La solución stock de 6PPD-Q se preparó en metanol a una concentración de 1000 ppm (mg/L). Para la concentración de 10 µg/kg se preparó una solución patrón de 1 µg/mL mediante dilución 1:1000 del stock con metanol (5 µL de stock + 4995 µL de metanol). Para la aplicación de las dosis, se pesaron proporciones de 30 g de suelo OECD, sobre las cuales se aplicaron los

volúmenes de solución indicados en la Tabla 1, correspondientes a la dosis necesaria para 300 g de suelo (3 réplicas de 100 g).

***Tabla 1**. Preparación de las dosis de PPD-Q para 30 g de suelo OECD (equivalente a la dosis de 300 g).*

Tratamiento (µg/kg)	µL de solución patrón o stock para 30 g
Control agua	0
Control solvente	300 µL de metanol
10	300 µL de solución patrón 1 µL/mL
1000	30 µL de solución stock

El suelo se mezcló homogéneamente y se sometió a secado en campana de extracción durante 24 horas para evaporar completamente el metanol. Posteriormente, en cada frasco de 300 mL se colocaron 10 g del suelo tratado y se completó con 90 g de suelo OECD no tratado, para obtener una concentración final de 100 g de suelo por réplica con la dosis correspondiente.

Colocación de bioensayo (tiempo y observaciones que se realizaron)

Los organismos fueron expuestos durante 96 horas a las respectivas concentraciones. Durante este periodo se monitorearon cada 24 hrs los parámetros de humedad, temperatura y pH, así como la tasa de letalidad. En los tratamientos donde la humedad registrada fue menor al porcentaje requerido en el suelo, se realizó la adición de agua destilada para mantener las condiciones óptimas para los organismos.

Medición del comportamiento

Después de la exposición, el comportamiento locomotor de los organismos fue registrado en video. Previamente a la grabación, las cochinillas de humedad *(Porcellio scaber)* fueron transferidas individualmente de acuerdo con el tratamiento a placas de Petri con un filtro de celulosa previamente mojado con agua destilada, donde se les permitió aclimatarse durante 5 minutos. Posteriormente, se registró su comportamiento durante 3 minutos continuos de video, los cuales fueron grabados con la videocámara de un dispositivo Samsung Galaxy S23 Plus.

Los videos obtenidos fueron analizados mediante un Software especializado en el seguimiento y comportamiento animal: LoliTrack v.5.0 (Loligo® Systems, Viborg, Dinamarca). Las características finales de los videos que registraron los movimientos de los organismos para cada tratamiento fueron: resolución de 1280x720, fotogramas por segundo de 30 fps, duración de 3 min, formato de video AVI.

Finalmente, los datos de comportamiento que se obtuvieron fueron analizados estadísticamente. Para esto, la normalidad de los datos fue evaluada mediante la prueba estadística de Shapiro-Wilk. Una vez que esta prueba demostró la normalidad de los datos, se realizó una prueba Kruskal-Wallis debido a la n de los datos. Tanto el análisis estadístico como las gráficas que representan los resultados obtenidos fueron realizados con el software GraphPad Prism v.8.0.2. para Windows (GraphPad Software, Estados Unidos).

Resultados y discusión

Comparación de Softwares

A manera de comparación los videos obtenidos fueron analizados mediante tres programas especializados en el seguimiento y análisis del comportamiento animal: LoliTrack v.5.0 (Loligo® Systems, Viborg, Dinamarca), ToxTrac v2.0 (Rodriguez et al., 2018) y AnimalTA v4.2.0 (Friard & Gamba, 2016), con el propósito de comparar su utilidad para el análisis del comportamiento de *P. scaber*.

LoliTrack es un software comercial que integra herramientas para el seguimiento automático de organismos y la cuantificación de variables locomotoras, como la distancia recorrida, la velocidad, la aceleración, el tiempo de inmovilidad, las trayectorias y la permanencia en zonas de interés, además de permitir la generación de mapas de calor y la exportación de los datos para su posterior análisis estadístico (Loligo® Systems, 2024). Por otro lado, ToxTrac es un software gratuito basado en algoritmos de visión por computadora que permite el seguimiento automático de uno o múltiples organismos sin necesidad de marcadores físicos, así como la cuantificación de variables locomotoras y el análisis de trayectorias (Rodriguez et al., 2018). AnimalTA es una plataforma de acceso libre que facilita el seguimiento automático del movimiento animal, el análisis espacial y la generación de mapas de ocupación y mapas de calor, siendo ampliamente utilizada en estudios de comportamiento debido a su versatilidad y facilidad de configuración (Friard & Gamba, 2016).

LoliTrack fue seleccionado como el software principal para el procesamiento de los datos debido a que reúne, en una sola plataforma, las herramientas necesarias para el seguimiento y análisis del comportamiento animal. Esta integración facilita la obtención simultánea de variables locomotoras y representaciones espaciales del comportamiento, optimizando el procesamiento y análisis de la información. Las variables de velocidad, aceleración y distancia recorrida se obtuvieron mediante este software y posteriormente se compararon con los resultados generados por ToxTrac, así como también los mapas de calor elaborados con LoliTrack se contrastaron con los obtenidos mediante AnimalTA, con el fin de evaluar la concordancia y utilidad de estas herramientas para el análisis del comportamiento de *Porcellio scaber, Figura* 3 y 4.

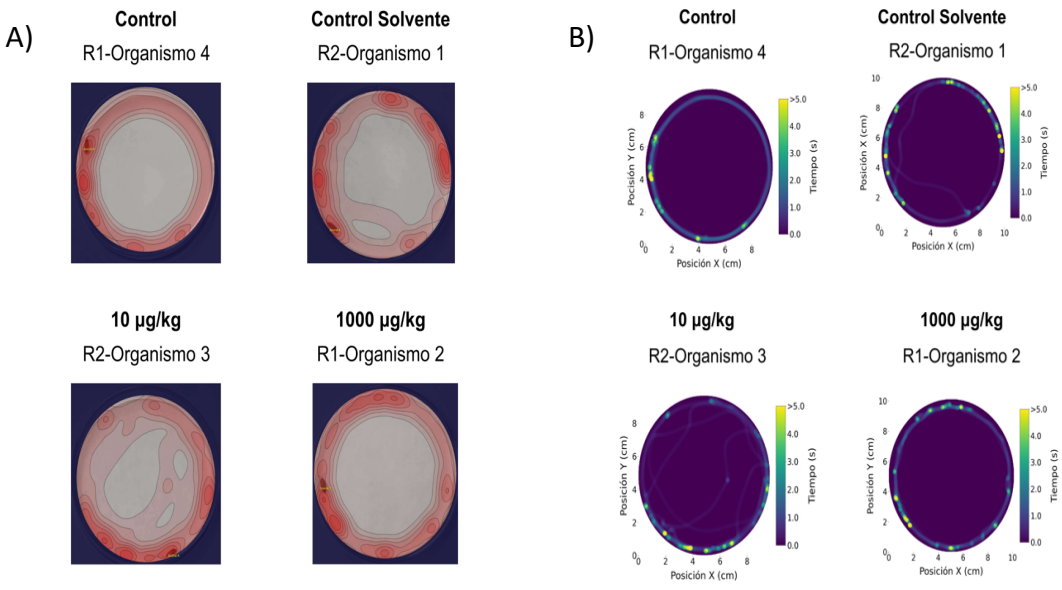


Figura 3. Mapas de Calor Generados A) LoliTrack, B) Animal TA

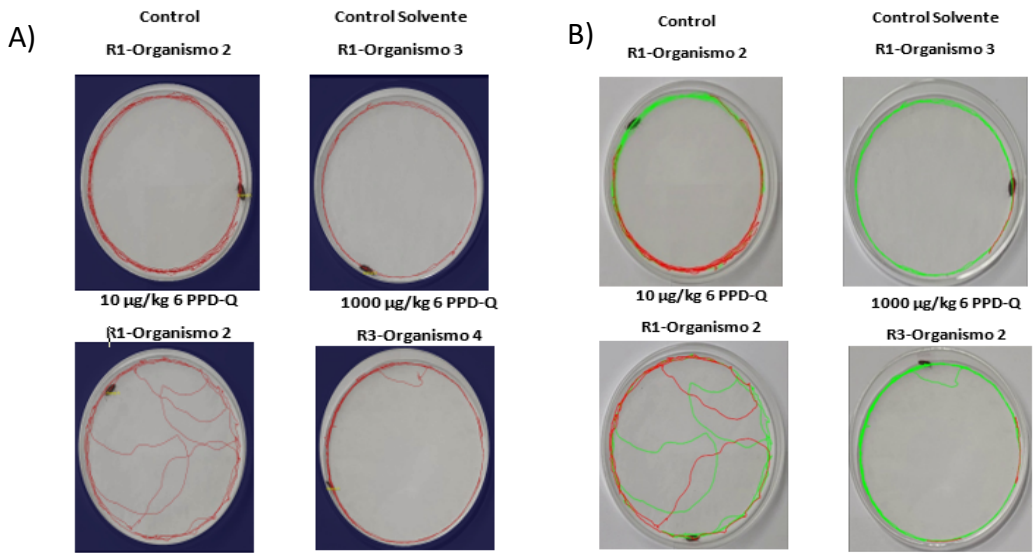


Figura 4. Análisis de trayectorias A) Loli Track, B) Tox Track

Análisis Estadístico de comportamiento

Tras la evaluación preliminar de los tres programas se seleccionó el software LoliTrack v.5.0 (Loligo® Systems, Viborg, Dinamarca) para el análisis final de los datos debido a su mejor desempeño para cuantificar los siguientes parámetros: distancia recorrida (cm), velocidad (cm/s), y aceleración (cm/s²).

Tabla 2. *Resultados del análisis estadístico de los parámetros locomotores en los grupos experimentales.*

Parámetros locomotores	H	>p
Velocidad(cm/seg)	1.443	>0.05
Aceleración(cm/seg²)	1.443	0.6955
Distancia (recorrida(cm)	1.760	0.6237

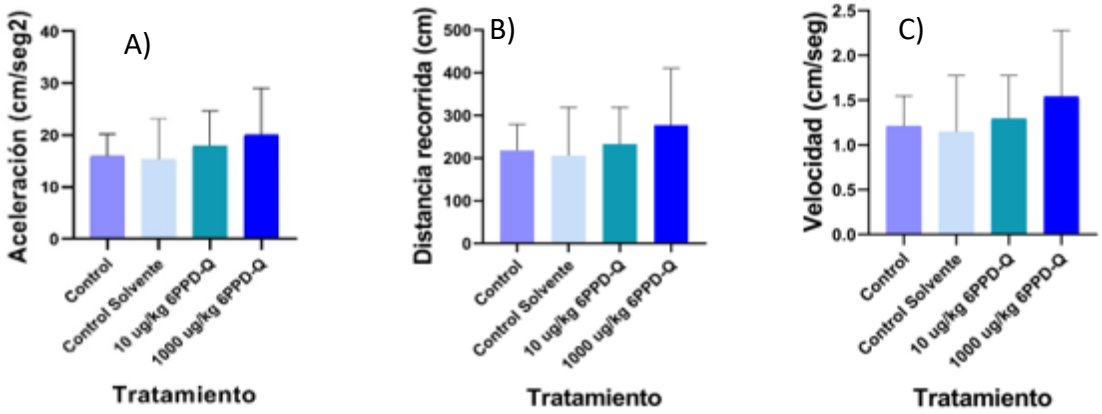


Figura 5. *Análisis de parámetros de comportamiento en Porcellio scaber expuesta a 6PPD-Q. A = aceleración en cm/s², B = distancia recorrida en cm, C = velocidad en cm/s. Los valores representan la media ± desviación estándar (n = 12 por tratamiento).*

El análisis de los parámetros locomotores mediante la prueba de Kruskal-Wallis no mostró diferencias significativas entre los grupos experimentales para la distancia recorrida ($H = 1.433$, $p = 0.6978$), la velocidad ($H = 1.443$, $p = 0.6955$) ni la aceleración ($H = 1.760$, $p = 0.6237$). Las comparaciones múltiples de Dunn confirman la ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos evaluados.

Limitaciones del sustrato

El suelo artificial OECD empleado cumple con las especificaciones para ensayos con lombrices y colémbolos (OCDE, 2016). Sin embargo, presentó una apariencia arenosa y gris, indicativa de baja retención de materia orgánica y humedad. Esto resulta problemático para *P. scaber*, detritívoro que en condiciones naturales habita suelos ricos en hojarasca y materia orgánica; un sustrato excesivamente mineral puede constituir un factor de estrés adicional al contaminante evaluado.

Mortalidad

Durante las 96 horas de exposición a 6PPD-Q no se registró mortalidad en los organismos de los tratamientos contaminados (0 %, 0/24 organismos). En los tratamientos control se observó una mortalidad del 8.3 % (1 organismo fallecido en control agua y 1 en control solvente, 2/24 organismos). Este valor se encuentra dentro del límite aceptable para la validez del bioensayo según los criterios de la OECD (≤10 % de mortalidad en controles) (OCDE, 2016), por lo que el ensayo se considera válido. La mortalidad en controles puede atribuirse a factores inherentes al manejo de los organismos o a condiciones ambientales subóptimas, no directamente relacionados con el contaminante evaluado, dado que los tratamientos expuestos a 6PPD-Q no presentaron mortalidad. Cabe señalar que en el control solvente no se recuperó el cadáver del organismo fallecido a las 96 horas. Adicionalmente, en la réplica R2 del control agua se detectó la presencia de una ninfa a las 72 horas, lo cual indica que los organismos mantuvieron actividad reproductiva durante el periodo de exposición.

Conclusión

Los resultados obtenidos en este estudio indican que la exposición aguda a 6PPD-Q en concentraciones de 10 y 1000 µg/kg durante 96 horas no produjo efectos significativos sobre el comportamiento locomotor de Porcellio scaber, ya que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la distancia recorrida, velocidad ni aceleración respecto a los grupos control. Asimismo, no se registró mortalidad en los organismos expuestos al contaminante, lo que sugiere que, bajo las condiciones experimentales evaluadas el 6PPD-Q no genera efectos agudos evidentes sobre la supervivencia ni en la actividad locomotora de esta especie.

Sin embargo, estos resultados deben interpretarse con cautela debido a algunas limitaciones, entre ellas el uso de suelo artificial OECD, cuyas características de baja humedad y bajo contenido de materia orgánica podrían haber representado una condición de estrés adicional para los organismos, además, la disminución progresiva de la humedad durante el ensayo pudo influir en el comportamiento de las cochinillas y en la biodisponibilidad del contaminante.

Con base en lo anterior, se proponen las siguientes recomendaciones para futuros estudios: (i) modificar la composición del suelo artificial aumentando el contenido de materia orgánica (10–15 % de peat moss), (ii) incluir hojarasca como fuente de alimento y refugio, (iii) monitorear y ajustar la humedad con mayor frecuencia (cada 8–12 h), y (iv) considerar el uso de suelos naturales para mejorar la extrapolación de resultados a condiciones de campo. Asimismo, se sugiere evaluar concentraciones mayores de 6PPD-Q y periodos de exposición crónica para determinar posibles efectos subletales en la reproducción y el comportamiento de P. scaber.

En conjunto, este estudio constituye una primera aproximación a la evaluación de la toxicidad de 6PPD-Q en isópodos terrestres y aporta información relevante sobre la utilidad de P. scaber como organismo modelo en ecotoxicología terrestre, así como sobre las herramientas de análisis del comportamiento locomotor mediante software especializado.

Referencias

- Chiara, V., & Kim, S.-Y. (2023). AnimalTA: A highly flexible and easy-to-use program for tracking and analysing animal movement in different environments. Methods in Ecology and Evolution, 14, 1699– 1707. https://doi.org/10.1111/2041-210X.14115.
- Ding, Y., y Wang, W.-X. (2026). Tissue-specific bioac cumulation and hepatotoxicity of 6PPD and 6PPD-Qui none in zebrafish. Environmental Chemistry and Eco toxicology, 8, 307–318. https://doi.org/https://doi. org/10.1016/j.enceco.2025.11.029
- Du, B., Liang, B., Li, Y., Shen, M., Liu, L.-Y., & Zeng, L. (2022). First Report on the Occurrence of N-(1,3-Dime thylbutyl)-N′-phenyl-p-phenylenediamine (6PPD) and 6PPD-Quinone as Pervasive Pollutants in Human Urine from South China. Environmental Science & Technology Letters, 9(12), 1056–1062. https://doi.org/10.1021/acs. estlett.2c00821
- Ihenetu, C.S., Xu, Q., Fang, L., Azeem, M., Li, G. y Enyoh, E.C. (2025). 6PPD and 6PPD-Quinone in the Ur ban Environment: Assessing Exposure Pathways and Human Health Risks. Urban Science, 9(228). https://doi. org/10.3390/urbansci9060228
- Jiao, F., Zhao, Y., Yue, Q., Wang, Q., Li, Z., Lin, W., Han, L., y Wei, L. (2025). Chronic toxicity mechanis ms of 6PPD and 6PPD-Quinone in zebrafish. Environ mental Science and Ecotechnology, 25. https://doi.or g/10.1016/j.ese.2025.100567
- Masset, T., Breider, F., Renaud, M., Müller, J., Berg mann, A., Vermeirssen, E., Dudefoi, W., Schirmer, K. y Ferrari, B.J.D. (2025). Effects of tire particles on ear thworm (Eisenia andrei) fitness and bioaccumulation of tire-related chemicals. Environmental Pollution, 368. ht tps://doi.org/10.1016/j.envpol.2025.1257
- Rodriguez, A., Molares-Ulloa, A., Andersson, M., y Brodin, T. (2026). ToxTrac 2026 (1.4). Universidade da Coruña. https://doi.org/10.5281/zenodo.2039389
- Rodríguez, A., Zhang, H., Klaminder, J., Brodin, T., Andersson, PL y Andersson, M. (2018). ToxTrac: un software rápido y robusto para el seguimiento de organismos. Methods in Ecology and Evolution. 9(3):460-464. https://doi.org/10.1111/2041-210X.12874
- Tian, Z., Zhao, H., Peter, K. T., Gonzalez, M., Wetzel, J., Wu, C., Hu, X., Prat, J., Mudrock, E., Hettinger, R., Cortina, A. E., Biswas, R. G., Kock, F. V. C., Soong, R., Jenne, A., Du, B., Hou, F., He, H., Lundeen, R., … Kolo dziej, E. P. (2021). A ubiquitous tire rubber–derived che mical induces acute mortality in coho salmon. Science, 371(6525), 185–189. https://doi.org/10.1126/science. abd6951
- Zhao, H. N., Thomas, S. P., Zylka, M. J., Dorrestein, P. C., y Hu, W. (2023). Urine Excretion, Organ Distribu tion, and Placental Transfer of 6PPD and 6PPD-Qui none in Mice and Potential Developmental Toxicity through Nuclear Receptor Pathways. Environmental Science and Technology, 57(36), 13429–13438. https:// doi.org/10.1021/acs.est.3c05026

- Loligo® Systems. (2024). *LoliTrack 5: Automated video tracking software* (Version 5.0) [Software]. Loligo® Systems. https://loligosystems.com/products/lolitrack

- Rodriguez, A., Zhang, H., Klaminder, J., Brodin, T., Andersson, P. L., & Andersson, M. (2018). *ToxTrac: A fast and robust software for tracking organisms. Methods in Ecology and Evolution, 9*(3), 460–464. https://doi.org/10.1111/2041-210X.12874

- Chiara, V. (2024). *AnimalTA* (Version 4.2.0) [Computer software]. GitHub. https://github.com/VioletteChiara/AnimalTA.

- Challis, J. K., Popick, H., Cuscito, L. D., et al. (2021). *Occurrence of the tire rubber-derived chemical 6PPD-quinone in urban runoff. Environmental Science & Technology Letters, 8*(11), 961–967. https://doi.org/10.1021/acs.estlett.1c00682

- Drobne, D. (1997). Terrestrial isopods (*Isopoda*: Crustacea) as a model group in ecotoxicology. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 11*(5), 265–279

- Kazmi, S. S. U. H., et al. (2024). *Navigating the environmental dynamics, toxicity to aquatic organisms and human associated risks of an emerging tire wear contaminant: 6PPD-quinone*. *Environmental Pollution, 351*, 124088

- Loureiro, S., Soares, A. M. V. M., & Nogueira, A. J. A. (2006). Terrestrial avoidance behaviour tests as screening tools to assess soil contamination. *Environmental Pollution, 138*(1), 121–131.

- Richardson, S. D. (2009). Water analysis: Emerging contaminants and current issues. *Analytical Chemistry, 81*(12), 4645–4677. https://doi.org/10.1021/ac9008012