

Mapping Selected Emergent Marine Toxin-Producing Organisms Using Historical Samples with Two Methods (Biosensors and Real-Time PCR): A Comparison of Resolution

Gerado Mengs ¹, Rowena F. Stern ^{2,*}, Jessica L. Clarke ³, Matthew Faith ⁴ and Linda K. Medlin ²

¹ EcoToxilab, Calle Juan XXIII, 10 Tielmes, 28550 Madrid, Spain; gmengs@ecotoxilab.com

² Marine Biological Association, Citadel Hill, Plymouth PL1 2PB, UK; lkm@mba.ac.uk

³ School of Natural and Environmental Sciences, Newcastle University, Newcastle upon Tyne NE1 7RU, UK; j.clarke14@ncl.ac.uk

⁴ School of Biological and Marine Science, University of Plymouth, Drake Circus, Plymouth PL4 8AA, UK; matthew.faith@plymouth.ac.uk

* Correspondence: rost@mba.ac.uk

Supplemental Table S1. Summary of PCR reactions from various CPR stations and positive controls in yellow (full D1/D2 LSU and in blue 378F+D2CR.)

Sample Name		Round 1 PCR Successful	Primers Used	Round 2 PCR Successful	Primers Used
<i>Karlodinium micrum</i>		Yes-500bp (strong)	D1R + D2C		
<i>Prorocentrum micans</i>		Yes-500bp, 300 bp	D1R + D2C		
<i>Gymnodinium catenatum</i>		No	D1R + D2C		
<i>Karlodinium micrum</i>		Yes-500bp (strong)	D1R + D2C		
<i>Prorocentrum micans</i>		Yes-500bp, 700 bp, 300 bp	D1R + D2C		
<i>Gymnodinium catenatum</i>		No	D1R + D2C		
<i>Karlodinium micrum</i>		Yes-500bp (strong), 300 bp		No	D1R + D1-548R
<i>Prorocentrum micans</i>		Yes-500 (light)		No	D1R + D1-548R
<i>Gymnodinium catenatum</i>		No		No	D1R + D1-548R
<i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i>		No	D1R + Atac3		
<i>Gymnodinium mikimotoi</i>		Yes-500bp	D1R + Atac3		
<i>Gymnodinium catenatum</i>		Yes-500bp	D1R + Atac3		

<i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i>		No	378F + D2C		
<i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i>		No / No	D1R + D2C		
<i>Gymnodinium mikimotoi</i>		No / No	D1R + D2C		
<i>Gymnodinium catenatum</i>		No / No	D1R + D2C		
5 SWL 4		No	D1R + D2C		
13 SWL 35 (2)		Yes-500bp	D1R + D2C		
SWL control		No	D1R + D2C		
608SB-6F		Yes-4-500bp	D1R + D2C		
608SB-6F + <i>K. micrum</i> spike		Yes-500bp	D1R + D2C		
5 SWL 4		No		No	D1R + D1 548R
13 SWL 35 (2)		Yes-400bp		No	D1R + D1 548R
SWL con		No		No	D1R + D1 548R
608SB6F		Yes-500bp, 300 bp		No	D1R + D1 548R
608SB6F + <i>K. micrum</i> spike		Yes-500bp, 300 bp		No	D1R + D1 548R
608SB 40		No	D1R + D2C		
608SB 24B		No	D1R + D2C		
608SB 46F		No	D1R + D2C		
618SA 25		No	D1R + D2C		
608SB 26F		No	D1R + D2C		
608SB 16F		No	D1R + D2C		
608SB 36F		No	D1R + D2C		
608SB 44D		No	D1R + D2C		
608SB 40		No	D1R + D2C		
608SB 24B		Yes-500bp	D1R + D2C		
608SB 46F		Yes-500bp	D1R + D2C		
618SA 25		No	D1R + D2C		
608SB 26F		Yes-500bp, 300 bp	D1R + D2C		
608SB 36F		Yes-500bp	D1R + D2C		
608SB 44D		No	D1R + D2C		
608SB 3		No	D1R + D2C		
608SB 13		No	D1R + D2C		
608SB 19		No	D1R + D2C		
608SB 25		No	D1R + D2C		

608SB 31		No	D1R + D2C		
608SB 33		No	D1R + D2C		
608SB 35		No	D1R + D2C		
608SB 37		No	D1R + D2C		
608SB 39		Yes-500bp	D1R + D2C		
608SB 3				No	D186F + D154R
608SB 13				No	D186F + D154R
608SB 19				No	D186F + D154R
608SB 25				No	D186F + D154R
608SB 31				No	D186F + D154R
608SB 33				No	D186F + D154R
608SB 35				No	D186F + D154R
608SB 37				No	D186F + D154R
608SB 39				No	D186F + D154R
608SB 3				Yes-300bp (strong)	378F + D2C
608SB 13				No	378F + D2C
608SB 19				No	378F + D2C
608SB 25				Yes-300bp (strong)	378F + D2C
608SB 31				Yes-300bp (strong)	378F + D2C
608SB 33				No	378F + D2C
608SB 35				Yes-300bp (strong)	378F + D2C
608SB 37				Yes-300bp (strong)	378F + D2C
608SB 39				Yes-300bp (strong)	378F + D2C
608SB 3		No	D186F + D154R		
608SB 13		No	D186F + D154R		
608SB 19		No	D186F + D154R		
608SB 25		No	D186F + D154R		
608SB 31		No	D186F + D154R		
608SB 33		No	D186F + D154R		

608SB 35		No	D186F + D1 54		
608SB 37		No	D186F + D1 54		
608SB 39		No	D186F + D1 54		
618SA 25		No	D186F + D1 54		
2-473SA 13		No	D186F + D1 54		
4 SWL 34		No	D186F + D1 54		
4 SWL 36(2)		No	D186F + D1 54		
4 SWL 40(2)		No	D186F + D1 54		
5 SWL 7(1)		No	D186F + D1 54		
PO4-511 GAT		No	D186F + D1 54		
PO4-5119		No	D186F + D1 54		
8 SWL 38 (1)		No	D186F + D1 54		
114 5 SWL 4		No	D186F + D1 54		
SWL 2018 con		No	D186F + D1 54		
PO4305E		No	D186F + D1 54		
4 SWL 38		No	D186F + D1 54		
SWL con 2019 CONTROL		No	D186F + D1 54		
<i>P. delicatissima</i> CONTROL +		Yes-300bp	D186F + D1 54		
608SB 3		No	378F + D2C		
608SB 13		No	378F + D2C		
608SB 19		No	378F + D2C		
608SB 25		No	378F + D2C		
608SB 31		No	378F + D2C		
608SB 33		No	378F + D2C		
608SB 35		No	378F + D2C		
608SB 37		No	378F + D2C		
608SB 39		Yes-300bp	378F + D2C		
618SA 25		No	378F + D2C		
2-473SA 13		No	378F + D2C		
4 SWL 34		No	378F + D2C		
4 SWL 36(2)		No	378F + D2C		
4 SWL 40(2)		No	378F + D2C		
5 SWL 7(1)		No	378F + D2C		
PO4-511 GAT		No	378F + D2C		
PO4-5119		No	378F + D2C		
8 SWL 38 (1)		No	378F + D2C		
114 5 SWL 4		No	378F + D2C		
SWL 2018 con		No	378F + D2C		
PO4305E		No	378F + D2C		
4 SWL 38		No	378F + D2C		

SWL con 2019 CONTROL		No	378F + D2C		
618SA 25		No / No	D1R + D2C		
2-473SA 13		Yes-300bp / No	D1R + D2C		
4 SWL 34		Yes-300bp / No	D1R + D2C		
4 SWL 36(2)		No / No	D1R + D2C		
4 SWL 40(2)		No / No	D1R + D2C		
5 SWL 7(1)		No / No	D1R + D2C		
PO4-511 GAT		Yes-300bp / No	D1R + D2C		
PO4-5119		No / No	D1R + D2C		
8 SWL 38 (1)		No / No	D1R + D2C		
114 5 SWL 4		Yes-300bp / No	D1R + D2C		
SWL 2018 con		Yes-300bp / No	D1R + D2C		
PO4305E		No / No	D1R + D2C		
4 SWL 38		No / No	D1R + D2C		
SWL con 2019		Yes-300bp / No	D1R + D2C		
608SB 3		No	D1R + Atac3		
608SB 13		No	D1R + Atac3		
608SB 19		Yes-200bp	D1R + Atac3		
608SB 25		No	D1R + Atac3		
608SB 31		No	D1R + Atac3		
608SB 33		Yes-200bp	D1R + Atac3		
608SB 35		No	D1R + Atac3		
608SB 37		No	D1R + Atac3		
608SB 39		Yes-200bp	D1R + Atac3		
618SA 25		Yes-200bp	D1R + Atac3		
2-473SA 13		Yes-200bp	D1R + Atac3		
4 SWL 34		No	D1R + Atac3		
4 SWL 36(2)		No	D1R + Atac3		
4 SWL 40(2)		No	D1R + Atac3		
5 SWL 7(1)		Yes-500bp	D1R + Atac3		
PO4-511 GAT		No	D1R + Atac3		
PO4-5119		Yes-500bp	D1R + Atac3		
8 SWL 38 (1)		Yes-500bp	D1R + Atac3		
114 5 SWL 4		No	D1R + Atac3		
SWL 2018 con		No	D1R + Atac3		
PO4305E		No	D1R + Atac3		
4 SWL 38		No	D1R + Atac3		
SWL con 2019		No	D1R + Atac3		
608SB 3		No	D1R + Alex		
608SB 13		No	D1R + Alex		
608SB 19		No	D1R + Alex		

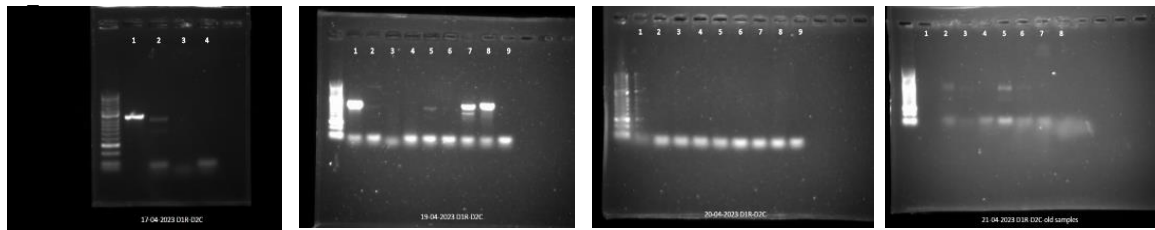
608SB 25		No	D1R + Alex		
608SB 31		No	D1R + Alex		
608SB 33		No	D1R + Alex		
608SB 35		No	D1R + Alex		
608SB 37		No	D1R + Alex		
608SB 39		No	D1R + Alex		
5 SWL (1)		No	D1R + Alex		
13 SWL 35		No	D1R + Alex		
PO 4511 G		No	D1R + Alex		
608SB 3		No	D1R + Amin		
608SB 13		No	D1R + Amin		
608SB 19		No	D1R + Amin		
608SB 25		No	D1R + Amin		
608SB 31		No	D1R + Amin		
608SB 33		No	D1R + Amin		
608SB 35		No	D1R + Amin		
608SB 37		No	D1R + Amin		
608SB 39		No	D1R + Amin		
5 SWL (1)		No	D1R + Amin		
13 SWL 35		No	D1R + Amin		
PO 4511 G		No	D1R + Amin		

Supplemental information S1: Sanger sequencing of *Pseudo-nitzschia delicatissima* CCAP 1061/41 partial LSU amplicon (Genbank submission, [SUB13994573](#), awaiting accession number)

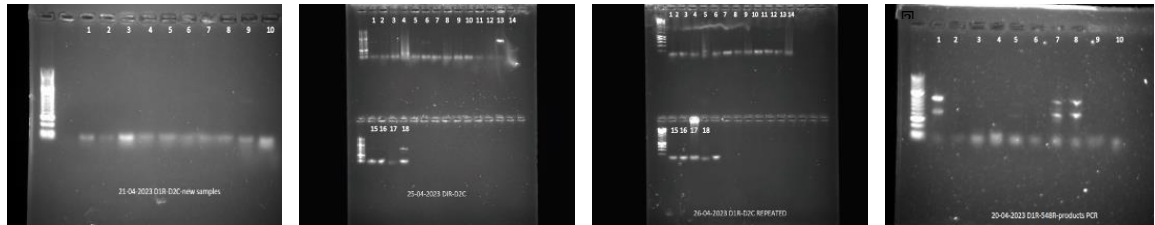
> *Pseudo-nitzschia delicatissima* CCAP1061/41

TTGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGTGGGAGACCGATAGCGTACAAGT
ACCGTGAGGGAAAGATGCAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTTAAAGAGTACCTGAAA
TTGCTGAAACGGAAGCGAAGGAAACCACTGTTTGTGTTGTTTCATATTTCCCTGGCCAC
TTGTGGTTTGGGCGCTGTGAGCTTGCGTGGGTTTGCTTTGGTTGAA

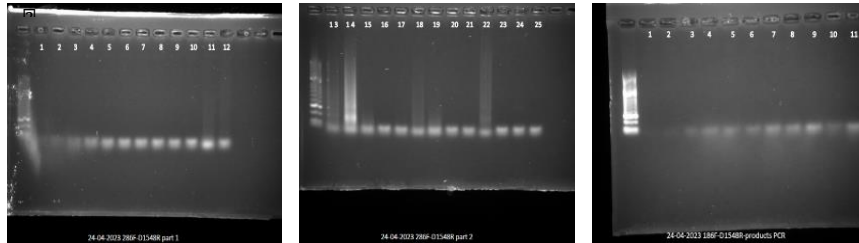
D1R-D2C



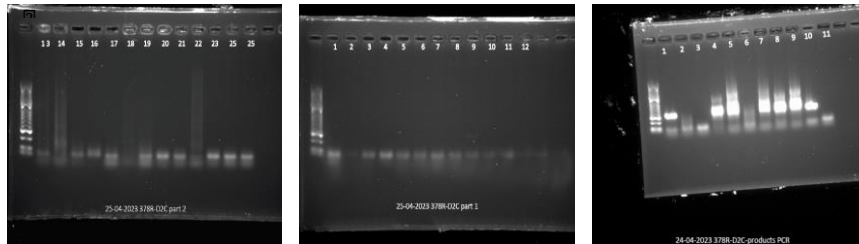
D1R-D1-548R



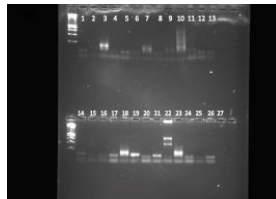
D186-D1-548R



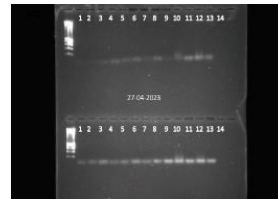
378R-D2C



D1R-Acat3



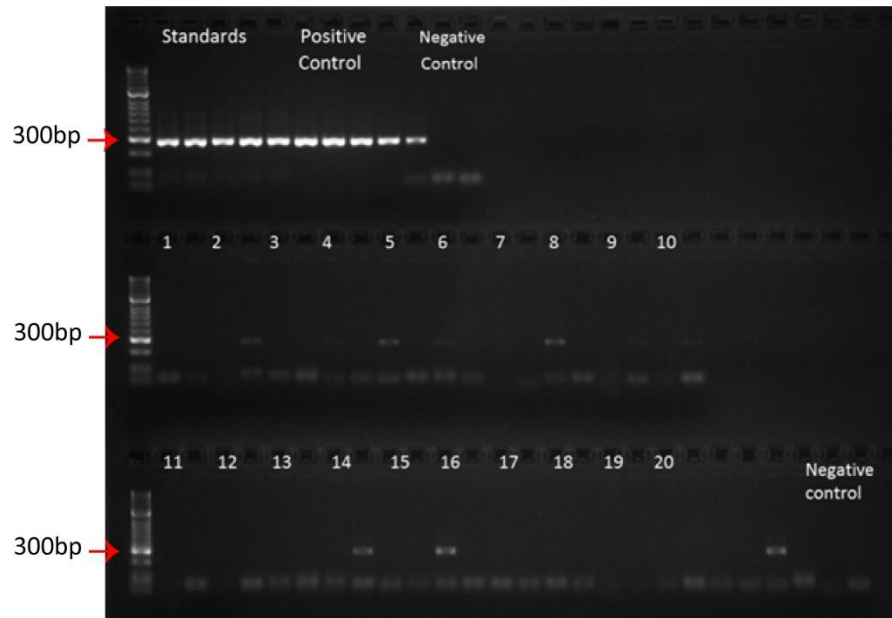
D1R-Alex1



D1R-Amin2



Supplemental Figure S1. Summary of gel documentation of PCR reactions showing the size and the intensity of the PCR reactions. Gels are arranged by PCR primers used in the reaction. Numbers refer to the various PCR products tested here plus the last number is the blank for each different gel or experiment. Each gel is a different station and different primer combination.



Supplemental Figure S2. Agarose gel of *P. delicatissima* LSU products following completion of HRM-qRT-PCR assay on DNA standards, positive *P. delicatissima* DNA positive control and negative no template control (top row). Middle and bottom rows show PCR products from CPR samples preserved in 4% formalin (1-10) and 2% formalin (11-20) respectively. Ladder: 50bp Hyperladder. Red arrows indicate three relative size points in the ladder.