

ПРИЛОЖЕНИЯ

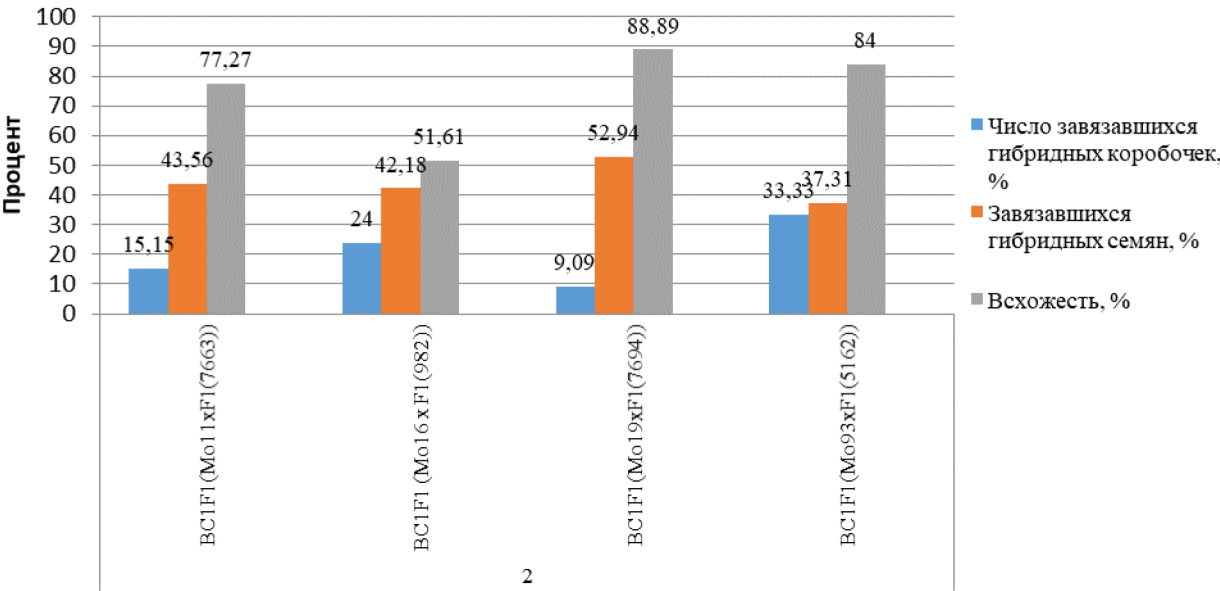
к статье М.Ф. Санамьян, Ш.У. Бобохужаева, Ш.С. Абдукаримова, Ж.С. Уралова, А.Б. Рустамова
«Изучение влияния интрогрессии хромосомы 2 A_t-субгенома хлопчатника
вида *Gossypium barbadense* L. при беккроссировании исходными линиями вида *G. hirsutum* L.»

SUPPLEMENTARY MATERIALS

to the article by M.F. Sanamyan, Sh.U. Bobokhujayev, Sh.S. Abdugarimov, J.S. Uralov, A.B. Rustamov
“Study of the influence of introgression from chromosome 2 of the A_t subgenome of cotton
Gossypium barbadense L. during backcrossing with the original lines of *G. hirsutum* L.”

Приложение 1. Скрещиваемость, завязываемость и всхожесть гибридных семян BC₁F₁,
полученных от скрещиваний моносомных линий хлопчатника *G. hirsutum* L.
с межвидовыми моносомными гибридами F₁(Мо×Pima 3-79)

Supplement 1. Crossability, setting and germination of hybrid seeds BC₁F₁ obtained from crossing
monosomic lines of cotton *G. hirsutum* L. with interspecific monosomic hybrids F₁(Мо×Pima 3-79)



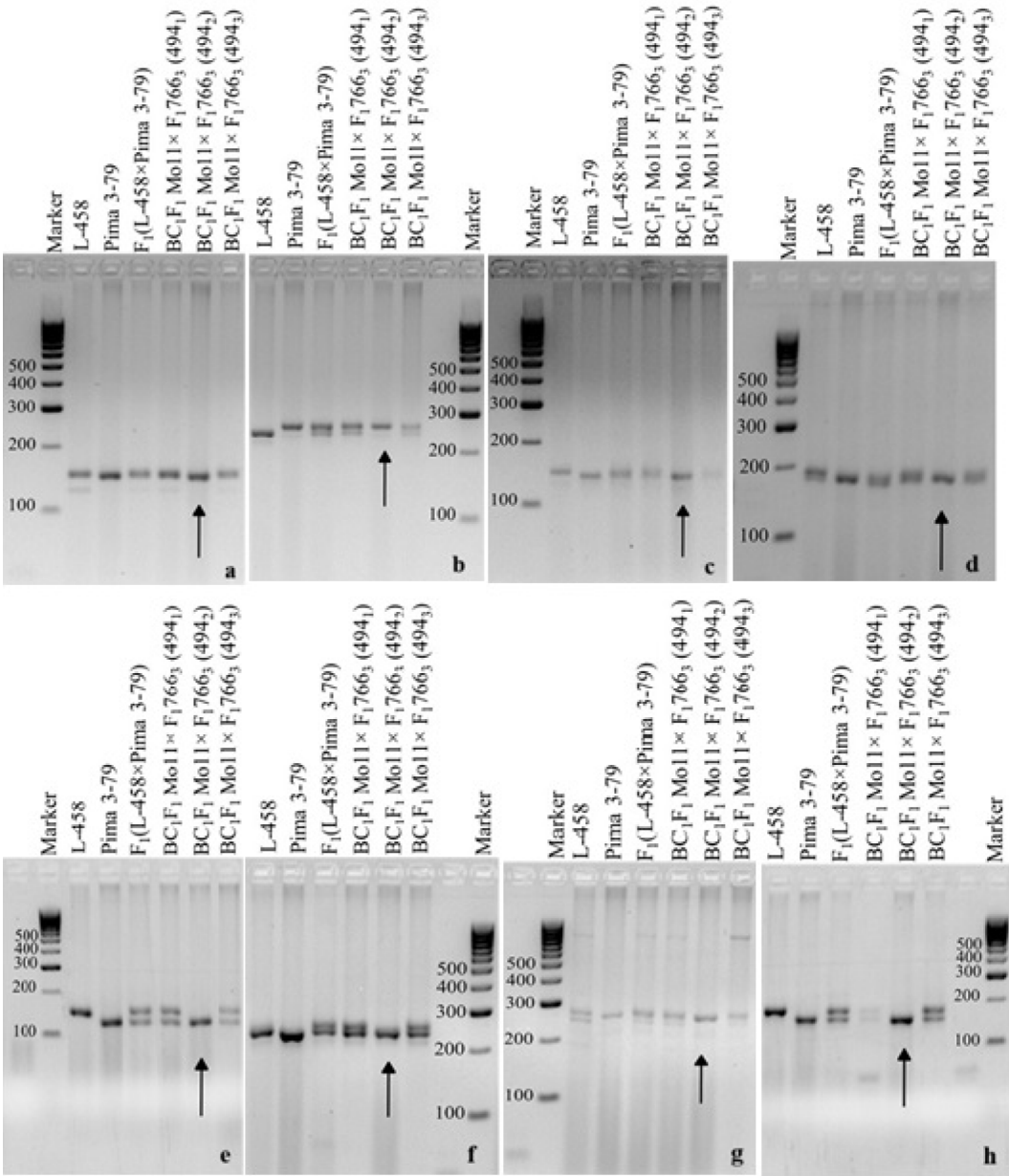
Приложение 2. Молекулярно-генетический анализ гибридных беккроссных проростков хлопчатника BC₁F₁ с помощью SSR-маркеров с участием линии Mo11 с нехваткой хромосомы 2 A_t-субгенома хлопчатника

Supplement 2. Molecular genetic analysis of hybrid backcross seedlings of cotton BC₁F₁ using SSR markers with the participation of the Mo11 line with a deficiency of chromosome 2 A_t subgenome of cotton

Хромосома	Вариант скрещивания	Семья	Номер гибрида	Присутствие микросателлитных маркеров вида <i>G. barbadense</i> L.
Chromosome	Hybrid variant	Family	Plant number	Presence of markers for <i>G. barbadense</i> L.
2	BC ₁ F ₁ (Mo11×F ₁ (766 ₃))	Family 1	9 ₁	–
			9 ₂	–
			9 ₃	–
			9 ₄	–
			9 ₅	–
		Family 2	10 ₁	–
			10 ₂	–
			10 ₃	–
			10 ₄	–
			10 ₅	–
			10 ₆	–
			10 ₇	–
			10 ₈	–
			10 ₉	–
			10 ₁₀	–
		Family 3	78 ₁	–
			78 ₂	–
			78 ₃	–
			78 ₄	–
		Family 4	79 ₁	–
			79 ₂	–
			79 ₃	–
			79 ₄	–
			79 ₅	–
			79 ₆	–
			79 ₇	–
			79 ₈	–
			79 ₈	–
			79 ₁₀	–
		Family 5	494 ₁	–
			494 ₂	BNL1434, TMB0471, JESPR179
			494 ₃	–

Приложение 3. Электрофореграмма ДНК-ампликонов SSR-маркеров у молодых проростков $BC_1F_1(Mo11 \times F_1(766_3))$ по хромосоме 2 *A_t*-субгенома хлопчатника: *a* – BNL834; *b* – BNL1434; *c* – BNL1897; *d* – BNL3590; *e* – BNL3971; *f* – BNL3972; *g* – CIR381; *h* – JESPR179.

Supplement 3. Electropherogram of DNA-amplicons of SSR markers in hybrid seedlings $BC_1F_1(Mo11 \times F_1(766_3))$ on chromosome 2 of the cotton *A_t* subgenome: *a* – BNL834; *b* – BNL1434; *c* – BNL1897; *d* – BNL3590; *e* – BNL3971; *f* – BNL3972; *g* – CIR381; *h* – JESPR179.



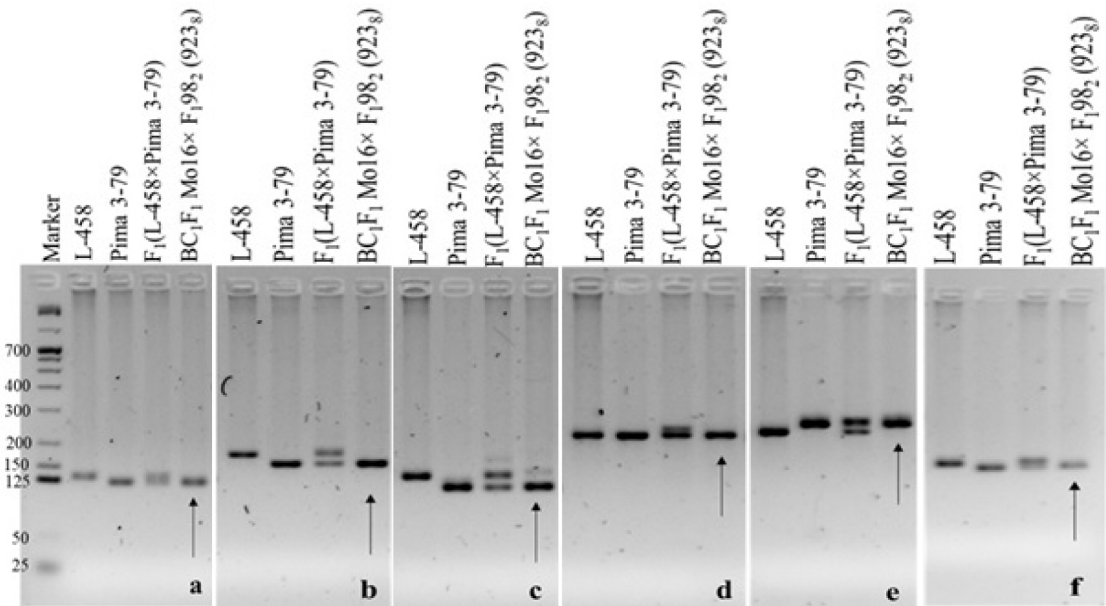
Приложение 4. Молекулярно-генетический анализ гибридных беккроссных проростков хлопчатника BC₁F₁ с помощью SSR-маркеров с участием линии Mo16 с нехваткой хромосомы 2 A_t-субгенома хлопчатника

Supplement 4. Molecular genetic analysis of hybrid backcross seedlings of cotton BC₁F₁ using SSR markers with the participation of the Mo16 line with a deficiency of chromosome 2 A_t subgenome of cotton

Хромосома	Вариант скрещивания	Семья	Номер гибрида	Присутствие микросателлитных маркеров вида <i>G. barbadense</i> L.
Chromosome	Hybrid variant	Family	Plant number	Presence of markers for <i>G. barbadense</i> L.
2	BC ₁ F ₁ (Mo16×F ₁ (98 ₂))	Family 1	922 ₁	–
			922 ₂	BNL834, TMB0471, JESPR179
			922 ₃	–
			922 ₄	–
			922 ₅	–
			922 ₆	–
			922 ₇	–
			922 ₈	BNL834, TMB0471, JESPR179
		Family 2	923 ₁	–
			923 ₂	–
			923 ₃	–
			923 ₄	–
			923 ₅	–
			923 ₆	–
			923 ₇	BNL834,TMB0471, JESPR179
			923 ₈	JESPR101, JESPR179, CIR376, DPL0674, NAU2277
		Family 3	495 ₁	–
			495 ₂	–
			495 ₃	–
			495 ₄	–
			495 ₅	BNL1434, TMB0471, JESPR179
		Family 4	496 ₁	–
		Family 5	497 ₁	BNL1434, TMB0471, JESPR179
			497 ₂	–
			497 ₃	–
			497 ₄	BNL1434, TMB0471, JESPR179

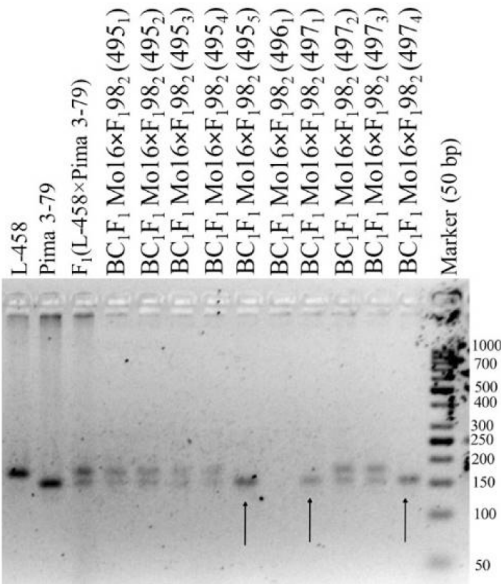
Приложение 5. Электрофореграмма ДНК-ампликонов SSR-маркеров у гибридного проростка BC_1F_1 ($Mo16 \times F_1(98_2)$) по хромосоме 2 A_t -субгенома хлопчатника: *a* – JESPR101; *b* – JESPR179; *c* – CIR376; *d* – DPL0674; *e* – NAU2277; *f* – BNL3971.

Supplement 5. Electropherogram of DNA-amplicons of SSR markers in hybrid seedlings BC_1F_1 ($Mo16 \times F_1(98_2)$) on chromosome 2 of the cotton A_t subgenome: *a* – JESPR101; *b* – JESPR179; *c* – CIR376; *d* – DPL0674; *e* – NAU2277; *f* – BNL3971.



Приложение 6. Электрофореграмма ДНК-ампликонов SSR-маркеров у гибридных проростков BC_1F_1 ($Mo16 \times F_1(98_2)$) по хромосоме 2 A_t -субгенома хлопчатника: JESPR179.

Supplement 6. Electropherogram of DNA-amplicons of SSR markers in hybrid seedlings BC_1F_1 ($Mo16 \times F_1(98_2)$) on chromosome 2 of the cotton A_t subgenome: JESPR179.



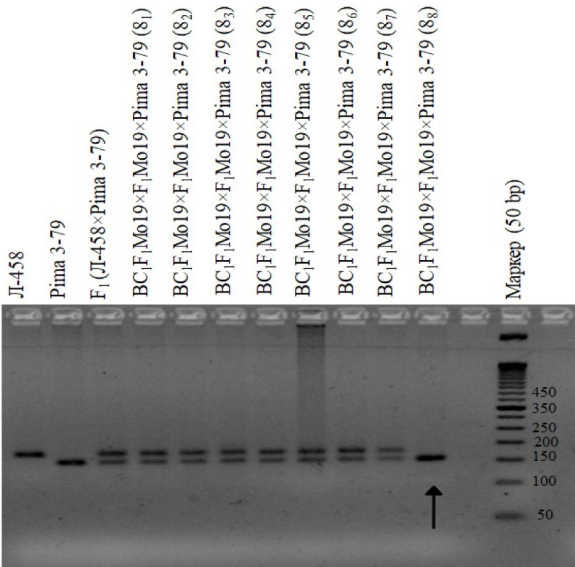
Приложение 7. Молекулярно-генетический анализ гибридных беккроссных проростков хлопчатника BC₁F₁ с помощью SSR-маркеров с участием линии Mo19 с нехваткой хромосомы 2 A_t-субгенома хлопчатника

Supplement 7. Molecular genetic analysis of hybrid backcross seedlings of cotton BC₁F₁ using SSR markers with the participation of the Mo19 line with a deficiency of chromosome 2 A_t subgenome of cotton

Хромосома	Вариант скрещивания	Семья	Номер гибрида	Присутствие микросателлитных маркеров вида <i>G. barbadense</i> L.
Chromosome	Hybrid variant	Family	Plant number	Presence of markers for <i>G. barbadense</i> L.
2	BC ₁ F ₁ (Mo19×F ₁ (769 ₄))	Family 1	8 ₁	–
			8 ₂	–
			8 ₃	–
			8 ₄	–
			8 ₅	–
			8 ₆	–
			8 ₇	–
			8 ₈	BNL3971, JESPR101, JESPR179, CIR376, DPL0674

Приложение 8. Электрофореграмма ДНК-ампликонов SSR-маркеров у гибридного проростка BC₁F₁(Mo19×F₁(769₄)) по хромосоме 2 A_t-субгенома хлопчатника: JESPR179.

Supplement 8. Electropherogram of DNA-amplicons of SSR markers in hybrid seedlings BC₁F₁(Mo19×F₁(769₄)) on chromosome 2 of the cotton A_t subgenome: JESPR179.



Приложение 9. Молекулярно-генетический анализ гибридных беккроссных проростков хлопчатника BC₁F₁ с помощью SSR-маркеров с участием линии Mo93 с нехваткой хромосомы 2 A_t-субгенома хлопчатника

Supplement 9. Molecular genetic analysis of hybrid backcross seedlings of cotton BC₁F₁ using SSR markers with the participation of the Mo93 line with a deficiency of chromosome 2 A_t subgenome of cotton

Хромосома	Вариант скрещивания	Семья	Номер гибрида	Присутствие микросателлитных маркеров вида <i>G. barbadense</i> L.
Chromosome	Hybrid variant	Family	Plant number	Presence of markers for <i>G. barbadense</i> L.
2	BC ₁ F ₁ (Mo93×F ₁ (516 ₄))	Family 1	6 ₁	–
			6 ₂	–
			6 ₃	–
		Family 2	7 ₁	BNL3971, JESPR179
			7 ₂	BNL3971, JESPR179
			7 ₃	BNL3971, JESPR179
			7 ₄	–
			7 ₅	–
		Family 3	88 ₁	JESPR179, BNL3545, BNL3971
			88 ₂	–
			88 ₃	–
			88 ₄	JESPR179, BNL3545, BNL3971
			88 ₅	–
			88 ₆	–
			88 ₇	JESPR179, BNL3545, BNL3971
		Family 4	89 ₁	–
			89 ₂	–
			89 ₃	JESPR179, BNL3545, BNL3971
			89 ₄	JESPR179, BNL3545, BNL3971
			89 ₅	–
			89 ₆	JESPR179, BNL3545, BNL3971

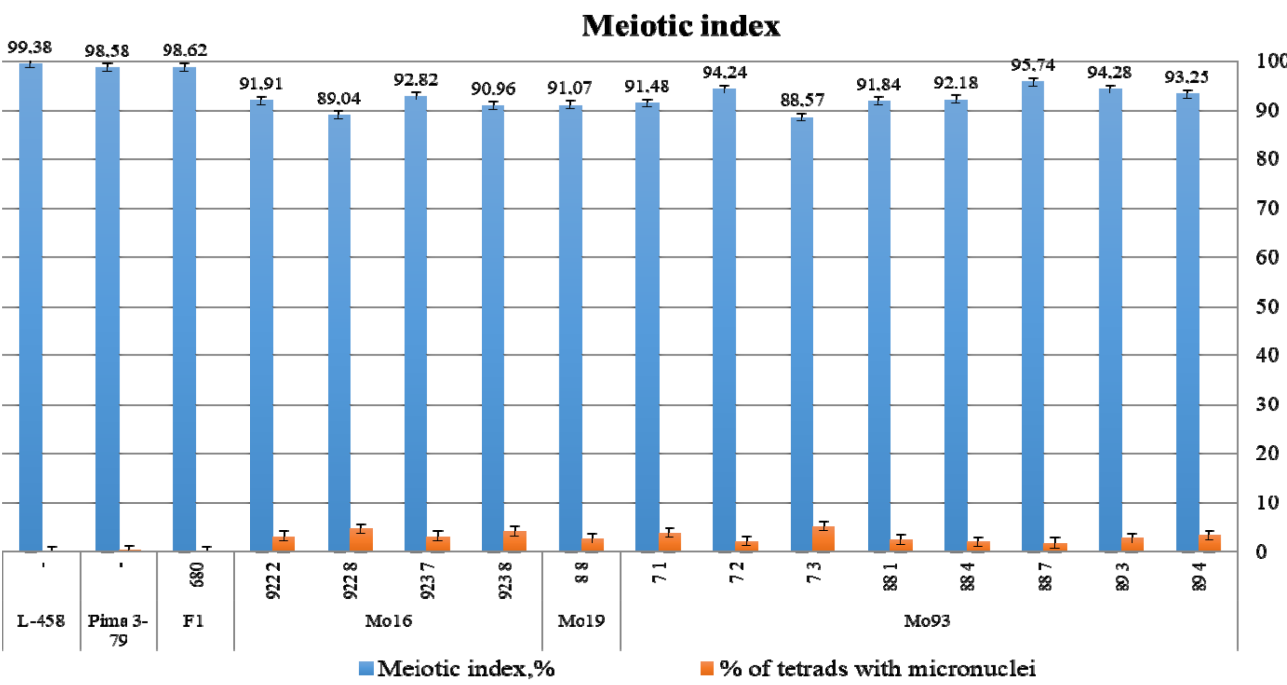
Приложение 10. Конъюгация хромосом на стадии метафазы I мейоза у моносомных гибридов BC₁F₁, полученных от скрещиваний рекуррентных родителей с моносомными гибридами F₁(Мо×Pima 3-79)

Supplement 10. Pairing of chromosomes at the stage of metaphase I of meiosis in monosomic hybrids BC₁F₁ obtained from crossing recurrent parents with monosomic hybrids F₁(Mo×Pima 3-79)

Хромосома	Вариант скрещивания	Номер гибрида	Число изученных МКП	Размер унивалента	В среднем на клетку	
					унивалентов	бивалентов
Chromosome	Crossing variant	Hybrid number	PMCs studied	Univalent size	Average per cell	
					Univalents	Bivalents
2	L-458	–	11	0	0	26.00 ± 0.00
	Pima 3-79	–	12	0	0	26.00 ± 0.00
	F ₁ (L-458×Pima 3-79)	680	10	0	0	26.00 ± 0.00
	BC ₁ F ₁ (Mo11×F ₁ (766 ₃))	494 ₂	13	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
	BC ₁ F ₁ (Mo16×F ₁ (98 ₆))	922 ₂	16	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
		922 ₈	14	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
		923 ₇	8	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
		923 ₈	15	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
		495 ₅	6	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
		497 ₁	20	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
		497 ₄	4	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
	BC ₁ F ₁ (Mo19×F ₁ (769 ₄))	8 ₈	11	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
	BC ₁ F ₁ (Mo93×F ₁ (516 ₄))	7 ₁	6	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
		7 ₂	9	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
		7 ₃	12	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
		88 ₁	14	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
		88 ₄	19	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
		88 ₇	10	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
		89 ₃	12	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00
		89 ₄	10	Large	1.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00

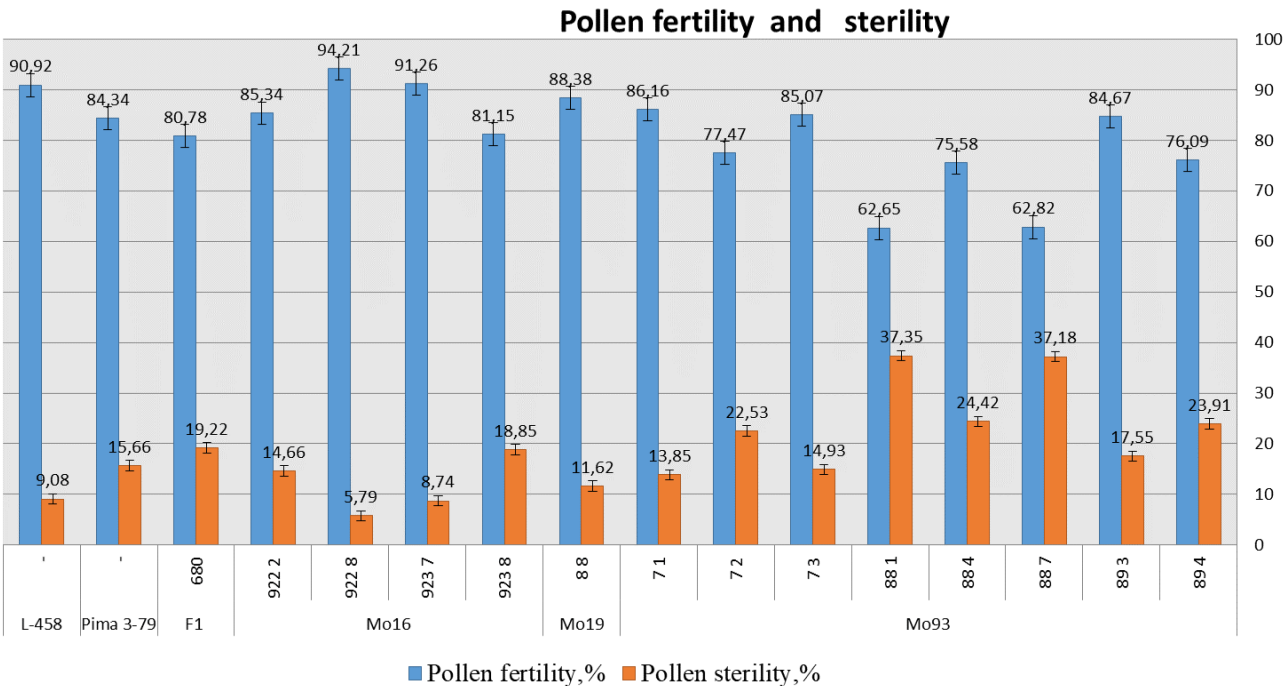
Приложение 11. Анализ спор у гибридов BC₁F₁, полученных от скрещиваний рекуррентных родителей с моносомными гибридами F₁(Мо×Pima 3-79)

Supplement 11. Analysis of sporads in hybrids BC₁F₁ obtained from crossing recurrent parents with monosomic hybrids F₁(Мо×Pima 3-79)



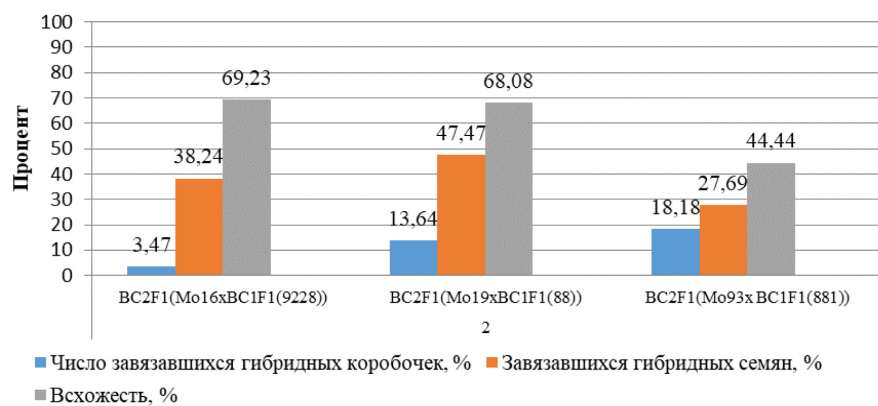
Приложение 12. Анализ фертильности пыльцы у моносомных гибридов BC₁F₁, полученных от скрещиваний рекуррентных родителей с моносомными гибридами F₁(Мо×Pima 3-79)

Supplement 12. Pollen fertility analysis in monosomic BC₁F₁ hybrids obtained from crosses of recurrent parents with monosomic F₁ hybrids (Мо×Pima 3-79)



Приложение 13. Скрещиваемость, завязываемость и всхожесть гибридных семян BC₂F₁, полученных от скрещиваний моносомных линий хлопчатника *G. hirsutum* L. с беккроссными моносомными гибридами BC₁F₁(Мо×F₁(Мо×Pima 3-79))

Supplement 13. Crossability, setting and germination of hybrid seeds BC₂F₁ obtained from crossing monosomic lines of cotton *G. hirsutum* L. with backcross monosomic hybrids BC₁F₁(Мо×F₁(Мо×Pima 3-79))



Приложение 14. Молекулярно-генетический анализ гибридных беккроссных проростков хлопчатника BC₂F₁ с помощью SSR-маркеров с участием линии Мо16 с нехваткой хромосомы 2 A_t-субгенома хлопчатника

Supplement 14. Molecular genetic analysis of hybrid backcross seedlings of cotton BC₂F₁ using SSR markers with the participation of the Mo16 line with a deficiency of chromosome 2 A_t subgenome of cotton

Хромосома	Вариант скрещивания	Семья	Номер гибрида	Присутствие микросателлитных маркеров вида <i>G. barbadense</i> L	Присутствие микросателлитных маркеров вида <i>G. hirsutum</i> L.
Chromosome	Hybrid variant	Family	Plant number	Presence of markers for <i>G. barbadense</i> L.	Presence of markers for <i>G. hirsutum</i> L.
2	BC ₂ F ₁ (Mo16×BC ₁ F ₁ (922 ₈))	Family 1	817 ₁	CIR376, DPL0674, BNL3971, TMB1194	–
			817 ₂	–	–
			817 ₃	–	–
			817 ₄	CIR376, DPL0674, BNL3971, TMB1194	–
			817 ₅	–	–
			817 ₆	CIR376, DPL0674, BNL3971, TMB1194	–
			817 ₇	–	–
	BC ₂ F ₁ (Mo16×BC ₁ F ₁ (923 ₇))	Family 2	818 ₁	–	–
			818 ₂	–	CIR376, DPL0674, BNL3971, TMB1194
			818 ₃	–	CIR376, DPL0674, BNL3971, TMB1194
			818 ₄	–	CIR376, DPL0674, BNL3971, TMB1194
			818 ₅	–	–
			818 ₆	–	–
			818 ₇	–	CIR376, DPL0674, BNL3971, TMB1194

Приложение 15. Молекулярно-генетический анализ гибридных беккроссных проростков хлопчатника BC₂F₁ с помощью SSR-маркеров с участием линии Mo19 с нехваткой хромосомы 2 A₁-субгенома хлопчатника

Supplement 15. Molecular genetic analysis of hybrid backcross seedlings of cotton BC₂F₁ using SSR markers with the participation of the Mo19 line with a deficiency of chromosome 2 A₁ subgenome of cotton

Хромосома	Вариант скрещивания	Семья	Номер гибрида	Присутствие микросателлитных маркеров вида <i>G. barbadense</i> L.
Chromosome	Hybrid variant	Family	Plant number	Presence of markers for <i>G. barbadense</i> L.
2	BC ₂ F ₁ (Mo19×BC ₁ F ₁ (8 _g))	Family 1	819 ₁	–
			819 ₂	–
			819 ₃	–
			819 ₄	–
		Family 2	820 ₁	–
			820 ₂	JESPR179, BNL1434
			820 ₃	JESPR179, BNL1434
			820 ₄	–
			820 ₅	–
			820 ₆	–
			820 ₇	JESPR179, BNL1434
			820 ₈	–
			820 ₉	–
			820 ₁₀	JESPR179, BNL1434
			820 ₁₁	–
			820 ₁₂	–
			820 ₁₃	–
			820 ₁₄	JESPR179, BNL1434
			820 ₁₅	–
			820 ₁₆	–
			820 ₁₇	JESPR179, BNL1434
			820 ₁₈	–
		Family 3	821 ₁	–
			821 ₂	JESPR179, BNL1434
			821 ₃	JESPR179, BNL1434
			821 ₄	–
			821 ₅	–
			821 ₆	JESPR179, BNL1434
			821 ₇	–
			821 ₈	–
			821 ₉	–
			821 ₁₀	JESPR179, BNL1434
			821 ₁₁	–
			821 ₁₂	–
			821 ₁₃	–

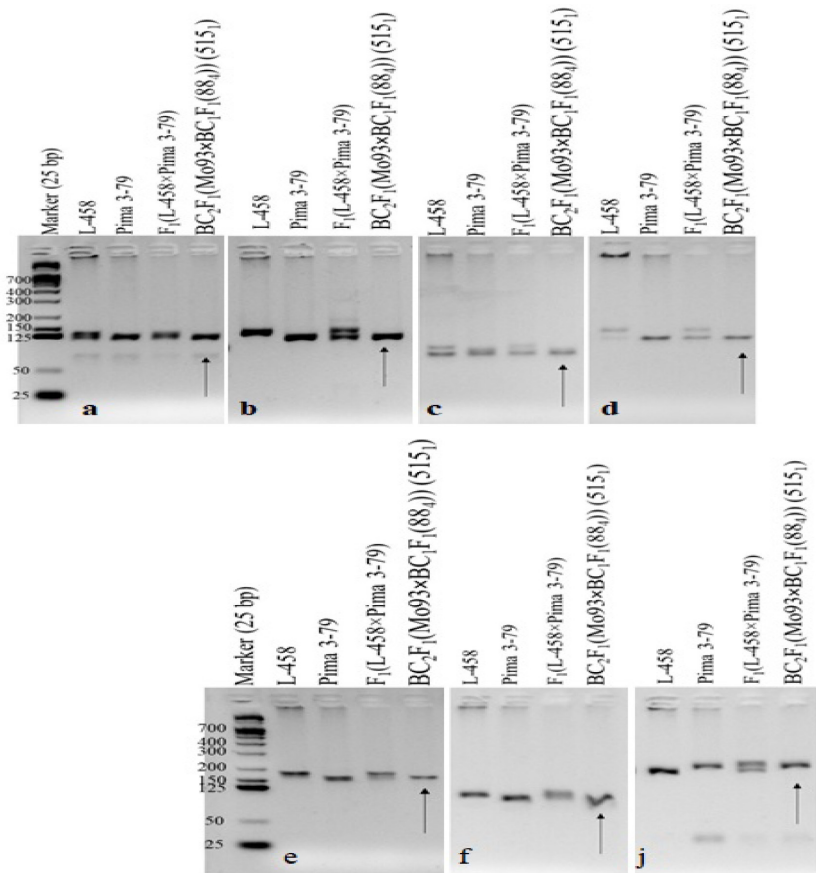
Приложение 16. Молекулярно-генетический анализ гибридных беккроссных проростков хлопчатника BC₂F₁ с помощью SSR-маркеров с участием линии Mo93 с нехваткой хромосомы 2 *A_t*-субгенома хлопчатника

Supplement 16. Molecular genetic analysis of hybrid backcross seedlings of cotton BC₂F₁ using SSR markers with the participation of the Mo93 line with a deficiency of chromosome 2 *A_t* subgenome of cotton

Хромосома	Вариант скрещивания	Семья	Номер гибрида	Присутствие микросателлитных маркеров вида <i>G. barbadense</i> L.
Chromosome	Hybrid variant	Family	Plant number	Presence of markers for <i>G. barbadense</i> L.
2	BC ₂ F ₁ (Mo93×BC ₁ F ₁ (88 ₄))	Family 1	515 ₁	BNL834, BNL1434, BNL1897, BNL3292, BNL3413, BNL3424, BNL3547, BNL3971, BNL3972, JESPR101, JESPR179, JESPR304, TMB0471, CIR376, CIR381, CIR401, DPL0674, NAU2277
			515 ₂	–
			515 ₃	–
			516 ₁	–
		Family 2	516 ₂	–
			516 ₃	–
			516 ₄	–

Приложение 17. Электрофореграмма ДНК-ампликонов SSR-маркеров у гибридных проростков BC₂F₁(Mo93×BC₁F₁(88₄)) по хромосоме 2 *A_t*-субгенома хлопчатника:
a – JESPR101; *b* – JESPR179; *c* – BNL3547; *d* – BNL3971; *e* – CIR376; *f* – NAU2277; *j* – DPL0674.

Supplement 17. Electropherogram of DNA-amplicons of SSR markers in hybrid seedlings BC₂F₁(Mo93×BC₁F₁(88₄)) on chromosome 2 of the cotton *A_t* subgenome cotton:
a – JESPR101; *b* – JESPR179; *c* – BNL3547; *d* – BNL3971; *e* – CIR376; *f* – NAU2277; *j* – DPL0674.



Приложение 18. Молекулярно-генетический анализ гибридных беккроссных проростков хлопчатника BC₃F₁ с помощью SSR-маркеров с участием линии Mo93 с нехваткой хромосомы 2 A_t-субгенома хлопчатника

Supplement 18. Molecular genetic analysis of hybrid backcross seedlings of cotton BC₃F₁ using SSR markers with the participation of the Mo93 line with a deficiency of chromosome 2 A_t subgenome of cotton

Хромосома	Вариант скрещивания	Семья	Номер гибрида	Присутствие микросателлитных маркеров вида <i>G. barbadense</i>
Chromosome	Hybrid variant	Family	Plant number	Presence of markers for <i>G. barbadense</i> L.
2	BC ₃ F ₁ (Mo93×BC ₂ F ₁ (515 ₁))	Семья 1	839 ₁	CIR376, DPL0674, BNL3971, TMB1194
			839 ₂	CIR376, DPL0674, BNL3971, TMB1194
			839 ₃	–
			839 ₄	CIR376, DPL0674, BNL3971, TMB1194
			839 ₅	–
			839 ₆	–
			839 ₇	–
			839 ₈	–
			839 ₉	CIR376, DPL0674, BNL3971, TMB1194
			839 ₁₀	CIR376, DPL0674, BNL3971, TMB1194
			839 ₁₁	CIR376, DPL0674, BNL3971, TMB1194
			839 ₁₂	CIR376, DPL0674, BNL3971, TMB1194

Приложение 19. Микросателлитные маркеры, использованные при анализе
моносомных беккроссных BC₁F₁, BC₂F₁ и BC₃F₁ гибридов хлопчатника

Supplement 19. Microsatellite markers used in the analysis
of monosomic backcross BC₁F₁, BC₂F₁ and BC₃F₁ cotton hybrids

Хромосома	SSR-маркеры	Коллекция	Размер ПЦП-продуктов SSR-маркера, н. п. о.*		Литературный источник
			<i>G. hirsutum</i> (Л-458)	<i>G. barbadense</i> (Pima 3-79)	
Chromosome	SSR-markers	Collection	Size of PCR products of SSR marker, n.b.p.*		References
			<i>G. hirsutum</i> (L-458)	<i>G. barbadense</i> (Pima 3-79)	
2	BNL834	BNL	120	–	Gutiérrez et al., 2009
	BNL1434		248	264	Liu et al., 2000; Gutiérrez et al., 2009; Yu et al., 2011; Saha et al., 2015; Wang et al., 2016
	BNL1897		143	137	Gutiérrez et al., 2009; Yu et al., 2011; Saha et al., 2015; Wang et al., 2016
	BNL3292		110, 113	110, 122	Gutiérrez et al., 2009; Yu et al., 2011
	BNL3413		176	224	Saha et al., 2013
	BNL3424		148	152	Gutiérrez et al., 2009
	BNL3547		85, 99	85, 91	Yu et al., 2011; Wang et al., 2016
	BNL3590	JESPR	180	174	Gutiérrez et al., 2009
	BNL3971		140	116	Liu et al., 2000; Gutiérrez et al., 2009; Yu et al., 2011; Saha et al., 2015; Wang et al., 2016
	BNL3972		240	238	Saha et al., 2015; Wang et al., 2016
	JESPR101		127	120	Yu et al., 2011; Saha et al., 2015
	JESPR179		174	152	Saha et al., 2015
	JESPR304		143	121	Saha et al., 2015
	TMB0471	TMB	207	173	Detected using GelAnalyzer 19.1 software
	CIR376		169, 172	155, 169, 172	Yu et al., 2011; Wang et al., 2016
	CIR381		170, 190	–	Yu et al., 2011; Saha et al., 2013
	CIR401	DPL	123	121	https://www.cottongen.org/ data/download/marker_origin
	DPL0674		232	255	Yu et al., 2011; Saha et al., 2015; Wang et al., 2016
	NAU2277	NAU	131, 136	–	Saha et al., 2015

* n.b.p. – nucleotide base pairs.

Приложение 20. Трансмиссия унивалентов у моносомных гибридов с чужеродной хромосомой 2 A_t-субгенома хлопчатника вида *G. barbadense* L.

Supplement 20. Transmission of univalents in monosomic hybrids with alien chromosome 2 of the A_t subgenome of cotton of the species *G. barbadense* L.

Моносомные линии	Гибридные поколения	Общее число растений	Дисомики	Замещение	Элиминация	Передача чужеродной хромосомы <i>G. barbadense</i>	Элиминация чужеродной хромосомы <i>G. barbadense</i>
Monosomic lines	Hybrid generations	Total number of plants	Disomics	Substitution	Elimination	Transfer of alien chromosome <i>G. barbadense</i>	Elimination of alien chromosome <i>G. barbadense</i>
Mo11	F ₁	16	15	1	0	6.25	0.00
	BC ₁ F ₁	32	31	1	0	3.13	0.00
Mo16	F ₁	8	6	2	0	25.00	0.00
	BC ₁ F ₁	33	26	7	0	21.21	0.00
	BC ₂ F ₁	25	13	3	9	12.00	36.00
Mo19	F ₁	25	13	3	0	12.00	0.00
	BC ₁ F ₁	8	7	1	0	12.50	0.00
	BC ₂ F ₁	35	25	10	0	28.57	0.00
Mo93	F ₁	11	9	2	0	18.18	0.00
	BC ₁ F ₁	21	12	9	0	42.86	0.00
	BC ₂ F ₁	7	6	1	0	14.29	0.00
	BC ₃ F ₁	12	5	7	0	58.33	0.00