

## **INFORME CIENTIFICO DE BECA**

Legajo N°:

**BECA DE ESTUDIO**

**PERIODO ABRIL 2013-SEPTIEMBRE 2014**

**1. APELLIDO:** DE PIANO

**NOMBRES:** FIORELLA GISELLE

**Dirección Particular: Calle:**                      **N°:**

**Localidad:** BALCARCE **CP:** 7620 **Tel:**

**Dirección electrónica (donde desea recibir información):**

**2. TEMA DE INVESTIGACIÓN** (Debe adjuntarse copia del plan de actividades presentado con la solicitud de Beca)

“Metabolitos bacterianos: Evaluación in vitro de su potencial acaricida sobre el ácaro Varroa destructor ectoparásito de Apis mellifera”

**3. OTROS DATOS** (Completar lo que corresponda)

**BECA DE ESTUDIO: 1º AÑO:** Fecha de iniciación: 01/04/2013

**2º AÑO:** Fecha de iniciación: 01/04/2014

**BECA DE PERFECCIONAMIENTO: 1º AÑO:** Fecha de iniciación:

**2º AÑO:** Fecha de iniciación:

**4. INSTITUCIÓN DONDE DESARROLLA LOS TRABAJOS**

**Universidad y/o Centro:** UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA

**Facultad:** FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

**Departamento:** DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

**Cátedra:** CÁTEDRA DE APICULTURA

**Otros:** -

**Dirección: Calle:** RUTA 226 km 73,5 **N°:** -

**Localidad:** BALCARCE **CP:** 7620 **Tel:** 2266-430-456

**5. DIRECTOR DE BECA**

**Apellido y Nombres:** RUFFINENGO SERGIO ROBERTO

**Dirección Particular: Calle:**                      **N°:**

**Localidad:** MAR DEL PLATA **CP:** 7600 **Tel:**

**Dirección electrónica:**

**6. EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.** (Debe exponerse la orientación impuesta a los trabajos, técnicas empleadas, métodos, etc., y dificultades encontradas en el desarrollo de los mismos, en el plano científico y material).

1) Obtención y caracterización de Metabolitos bacterianos:

1.1) Cepas bacterianas

Se trabajó con las siguientes cepas:

- 1-Lactobacillus johnsonii AJ5
- 2-Enterococcus faecium SM21
- 3-Bacillus subtilis subsp. subtilis Mori2

Las mismas fueron aisladas del intestino de abejas en INIQUI, UNSa, Salta. Colonias de la cepa 1 crecidas en placas de Petri en agar MRS (37°C por 24-48 hs, bajo microaerofilia) y de las cepas 2 y 3 crecidas en agar BHI (37°C por 24-48 hs), se traspasaron y cultivaron en caldos MRS y BHI y se incubaron bajo las condiciones antes mencionadas.

1.2) Obtención de los distintos metabolitos y posibles principios activos.

Los metabolitos bacterianos se recuperaron en los caldos de cultivos específicos para el desarrollo de cada cepa bacteriana, como sobrenadantes libres de células (SLC).

- SLC 1: Los ácidos orgánicos, producto del metabolismo de Lactobacillus johnsonii AJ5, se obtuvieron por simple centrifugación del medio de fermentación (MRS) donde se desarrolló la cepa. Como resultado de este procedimiento se obtuvo el respectivo SLC.

La concentración de ácidos orgánicos (láctico y acético) se cuantificó por HPLC.

- SLC 2: Bacteriocinas del tipo de entocinas A, B y P producidas por Enterococcus faecium SM21, se recuperaron en el caldo de cultivo BHI donde se desarrolló la cepa bacteriana. Dicho SLC se obtuvo por simple centrifugación y sin pasar posteriormente por ninguna etapa de purificación.

- SLC 3: Lipopéptidos del tipo de iturina A o surfactina se aislaron en caldo de cultivo BHI como producto del metabolismo de Bacillus subtilis subsp. subtilis Mori 2.

2) Toxicidad in Vitro de los metabolitos bacterianos sobre abejas adultas, administrados en forma sistémica.

2.1) Para cumplir con este objetivo se trabajó, inicialmente, en la puesta a punto de una técnica de alimentación individual. La misma consiste en colocar individualmente abejas dentro de recipientes plásticos de 3 cm de alto por 3 cm de diámetro, disponiendo de un alimentador interno (cúpula de traslarve), de una esponja embebida en agua (65 µl diarios) y de ventilación adecuada. Las condiciones de incubación fueron 33°C±1,5 y 70%±3 HR. Todos los ensayos se realizaron con abejas nodrizas de entre 24 y 48 hs, con 3-4 hs de inanición. La alimentación de base consistió de una solución azucarada 2:1 (agua y azúcar) y el suministro diario (ad libitum) fue de 80 µl. Por cada tratamiento se realizaron treinta réplicas.

Dificultades en el desarrollo del trabajo:

- Cristalización del jarabe de azúcar suministrado como alimento. Debido a la cristalización del jarabe, se observaron limitaciones en relación al consumo normal de alimento por parte de las abejas. Se realizaron diferentes pruebas para superar este obstáculo y determinar las condiciones óptimas de incubación y la concentración de la solución azucarada. A fin de mantener en estado líquido el jarabe de azúcar se resolvió utilizar una concentración 2:1 (agua y azúcar), a 33°C±1,5 y 70%±3 HR. Se incorporó, además, dentro de cada recipiente, una fuente de agua en pequeñas esponjas (65 µl diarios).

- Consumo de alimento diario. Se observó que, dentro de las primeras 24 hs, el volumen inicial (80 µl) de alimento suministrado, no era consumido en su totalidad por las abejas. Por ello, se optó por una alimentación prolongada de jarabe de azúcar (2:1) con los SLC y los medios de cultivos (controles), de 80 µl diarios para cada una de las concentraciones.

## 2.2) Efecto de los medios de cultivos sobre abeja adulta y determinación de la concentración óptima.

-Medio MRS (5,5%p/v). Se realizaron ensayos, en los cuales se testearon diferentes concentraciones del medio de cultivo suministrado en solución azucarada (1,25; 6,25; 12,5; 25 y 37,5 %v/v), contrastados con el control (jarabe de azúcar). Se determinó como óptima la concentración de 6,25%v/v, debido a que presentó la mayor supervivencia acumulada.

Dado que el medio de cultivo MRS es altamente nutritivo, se realizaron pruebas anexas de supervivencia sobre abejas nodrizas (según la metodología descrita en el punto 2.1), eliminando las fuentes nitrogenadas del mismo. El caldo MRS y el jarabe mostraron efectos similares, mientras que el caldo sin fuentes nitrogenadas presentó una reducción en la supervivencia.

-Medio BHI (2%p/v). Se testearon concentraciones de 1, 5, 10, 15 y 20 %v/v (medio de cultivo en solución azucarada). Como control se utilizó jarabe de azúcar. Se seleccionó la concentración de 15 %v/v como óptima, por presentar la mayor supervivencia acumulada.

## 2.3) Toxicidad in vitro de los metabolitos bacterianos.

El ensayo de toxicidad sobre abejas nodrizas, se llevó a cabo mediante la metodología descrita en el punto 2.1.

-SLC 1: Las concentraciones de SLC en solución azucarada ensayadas fueron: 1, 6, 20 y 40 % v/v. Se realizaron dos controles, uno con jarabe de azúcar (2:1) y el otro con una solución de Caldo MRS y jarabe al 6,25 %v/v (concentración determinada en el punto 2.2).

-SLC 2: Las concentraciones de SLC en solución azucarada fueron: 1, 5, 15 y 30 %v/v. Como controles fueron utilizados jarabe de azúcar (2:1) y solución de Caldo BHI y jarabe al 15 %v/v (concentración determinada en el punto 2.2).

-SLC 3: SLC 3. Las concentraciones de SLC en solución azucarada fueron: 5, 15, 30 y 60 % v/v. Los controles empleados fueron jarabe de azúcar (2:1) y solución de Caldo BHI y jarabe al 15 % v/v (concentración determinada en el punto 2.2).

A las 72hs de exposición, la mortalidad, tanto en los controles como en todas las concentraciones de los diferentes SLC testeadas, no superó el 10 %.

## 3) Toxicidad in vitro de los metabolitos bacterianos sobre la abeja *A. mellifera* cuando los mismos son administrados por contacto.

Este objetivo fue reemplazado por ensayos de supervivencia de abejas bajo la técnica de alimentación mencionada en el punto 2.1. Este cambio se justifica en base a que, la administración de los SLC, dado el objetivo general, es más apropiada mediante su suministro en la alimentación.

-SLC1: Se observaron diferencias significativas en la supervivencia de las abejas entre las dosis testeadas con excepción de la 1 % v/v SLC-jarabe, respecto al control con jarabe, siendo en cualquier caso mayor en este último. La menor supervivencia se detectó para el control con el caldo MRS.

-SLC2: No se encontraron diferencias significativas en la supervivencia de abejas para cada dosis de SLC, respecto del control con jarabe. Se observaron diferencias entre la dosis 30%v/v SLC-jarabe y el control con jarabe, y entre la dosis 30%v/v SLC-jarabe con la dosis de 1% v/v SLC-jarabe. Para la dosis mayor, la supervivencia fue menor.

-SLC3: Se hallaron diferencias significativas entre la dosis 15% v/v SLC-jarabe y el control con caldo BHI, y entre la dosis 15% v/v SLC-jarabe con la dosis 60% v/v SLC-jarabe. Se observó mayor supervivencia de abejas para la menor de las dosis mencionada.

En base a estos resultados se destaca, un incremento significativo en la supervivencia con el SLC3 a una concentración de 15%v/v, mientras que los SLC1 y SLC2 no presentaron una mejora significativa de la misma respecto a sus controles.

4) Actividad acaricida de los metabolitos bacterianos aplicados en forma tópica sobre el ácaro *Varroa destructor*.

La metodología utilizada fue una adaptación de Damiani et al., (2010). Seis hembras adultas de *Varroa destructor* se colocaron sobre papel filtro (3 x 3 cm) conteniendo 200 ul de las siguientes diluciones: 100%, 60%, 30% y 10% v/v SLC/agua destilada. Los ácaros permanecieron en contacto por un minuto, luego se traspasaron a placas de petri y se mantuvieron en incubadora a 33°C±1,5 y 70%±3 HR. Se realizaron 5 réplicas para cada dilución de cada SLC. La mortalidad se controló cada una hora hasta cumplirse las 7.

La mortalidad de ácaros luego de las 7 hs de incubación, tanto en los controles como en todas las concentraciones de los diferentes SLC testeadas, no superó el 10 %. Esto sugiere que, los metabolitos bacterianos aplicados en forma tópica sobre el ácaro *Varroa destructor* presentan baja toxicidad.

## 7. TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN REALIZADOS O PUBLICADOS EN EL PERIODO.

**7.1. PUBLICACIONES.** Debe hacerse referencia, exclusivamente a aquellas publicaciones en la cual se halla hecho explícita mención de su calidad de Becario de la CIC. (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha aclaración no debe ser adjuntada. Indicar el nombre de los autores de cada trabajo, en el mismo orden que aparecen en la publicación, informe o memoria técnica, donde fue publicado, volumen, página y año si corresponde; asignándole a cada uno un número. En cada trabajo que el investigador presente -si lo considerase de importancia- agregará una nota justificando el mismo y su grado de participación.

-Pellegrini MC, Alvarez MV, Ponce AG, Cugnata NM, De Piano FG, Fuselli SR. (2014) Antiquorum sensing and antimicrobial activity of aromatic species from South America. *Journal of Essential Oil Research*, DOI:10.1080/10412905.2014.947387

-Ruffinengo RS, Maggi M, Fuselli S, De Piano FG, Negri P, Brasesco C, Satta A, Floris I, Eguaras M. (2014) Bioactivity of microencapsulated essentials oils and perspectives of their use in the control of *Varroa destructor*. *Bulletin of Insectology*, 67 (1): 81-86. ISSN 1721-8861.

-Maggi M, Negri P, Plischuk S, Szawarski N, De Piano F, De Feudis L, Eguaras M, Audisio C. (2013) Effects of the organic acids produced by a lactic acid bacterium in *Apis mellifera* colony development, *Nosema ceranae* control and fumagillin efficiency. *Veterinary Microbiology*, 167(3-4): 474-483. DOI 10.1016/j.vetmic.2013.07.030.

-Barrios C, Principal J, Cugnata N, De Piano F, Fuselli S, Maggi M, Melo H, Morales Y. (2012) La apicultura como estrategia de gestión ambiental en la recuperación de la cuenca del Embalse Guaremal, Municipio Peña, Estado Yaracuy, Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 30(3): 269-284. ISSN: 0798-7269

**7.2. PUBLICACIONES EN PRENSA.** (Aceptados para su publicación. Acompañar copia de cada uno de los trabajos y comprobante de aceptación, indicando lugar a que ha sido remitido. Ver punto 7.1.)

**7.3. PUBLICACIONES ENVIADAS Y AUN NO ACEPTADAS PARA SU PUBLICACIÓN.** (Adjuntar copia de cada uno de los trabajos. Ver punto 7.1.)

DE PIANO FG, MAGGI M, PELLEGRINI MC, CUGNATA NM, BUFFA F, NEGRI P, FUSELLI SR, AUDISIO C, RUFFINENGO S (2014) Effects of Lactobacillus johnsonii AJ5 metabolites on nutritional/immunological parameters, Nosema ceranae sporulation and performance of Apis mellifera colonies. Journal of Apicultural Research.

**7.4. PUBLICACIONES TERMINADAS Y AUN NO ENVIADAS PARA SU PUBLICACIÓN.**  
(Adjuntar resúmenes de no más de 200 palabras)

**7.5. COMUNICACIONES.** (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores)

**7.6. TRABAJOS EN REALIZACIÓN.** (Indicar en forma breve el estado en que se encuentran)  
Se encuentra en redacción un manuscrito de los ensayos realizados en laboratorio. En el mismo se incluye el efecto de los SLC sobre la supervivencia de la abeja mlífera y datos preliminares del efecto sobre los cuerpos grasos de la misma.

**8. OTROS TRABAJOS REALIZADOS.** (Publicaciones de divulgación, textos, etc.)

**8.1. DOCENCIA**

**8.2. DIVULGACIÓN**

-De Piano FG. (2013) El uso de metabolitos bacterianos como contribución al mejoramiento nutricional y sanitario de la colonia de abejas melíferas. Campo & Abejas. Suplemento Laboratorio de Artrópodos N°13.

**8.3. OTROS**

**CAPÍTULOS DE LIBROS:**

-Maggi MD, Ruffinengo SR, Negri P, Brasesco C, Medici S, Quintana S, Szawarski N, Gimenez Martinez P, De Piano F, Revainera P, Mitton G, Eguaras MJ. (2013) The Status of Bee Health and Colony Losses in Argentina. In: Honeybees: Foraging Behavior, Reproductive Biology and Diseases. ISBN: 978-1-62948-661-1.

-Maggi MD, Ruffinengo SR, Negri P, Brasesco C, Medici S, Quintana S, Szawarski N, Gimenez Martinez P, De Piano F, Revainera P, Mitton G, Eguaras MJ. (2013) Líneas de investigación en Varroosis: estudios actuales. I Taller Argentino de Patología de Insectos y sus Aplicaciones en Biocontrol. ISBN: 978-987-544-533-8.

-Ieno E, Maggi M, De Piano F, De Feudis L, Eguaras M, Hilbe J, Zuur A. (2013) GLMM applied on honeybee pollination data. In: Beginner's Guide to Generalized Linear Models with R and JAGS. Ed. Zuur AF, Hilbe J and Ieno EN. Springer. <http://www.highstat.com/BGGLM.htm>

**9. ASISTENCIA A REUNIONES CIENTÍFICAS.** (Se indicará la denominación, lugar y fecha de realización y títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas)

QUINTANA S, MITTON G, MEDICI S, DE PIANO F, PAGNUCO I, EGUARAS M, MAGGI M, RUFFINENGO S (2014) Mutaciones asociadas a resistencia a cumafós y piretroides en Varroa destructor, ácaro parásito de Apis mellifera. XLIII Congreso Argentino de Genética, San Carlos de Bariloche, Argentina. 19 al 22 de Octubre de 2014. Aceptado.

DE PIANO FG, MAGGI M, PELLEGRINI MC, MITTON G, VARELA S, EGUARAS M, AUDISIO MC, RUFFINENGO SR. (2014) Efecto de metabolitos bacterianos sobre la supervivencia de *Apis mellifera*. XI Congreso Latinoamericano de Apicultura. Iguazú, Argentina. 03 al 06 de Septiembre de 2014. Con arbitraje.

MITTON G, QUINTANA S, MÉDICI M, DE PIANO F, EGUARAS M, MAGGI M, RUFFINENGO S (2014) Evaluación de los niveles de susceptibilidad a cumafós y amitraz de poblaciones de ácaros de apiarios del S.E. de la Provincia de Buenos Aires. Congreso Latinoamericano de Apicultura, Iguazú, Argentina. 3 al 6 de Septiembre de 2014. Con arbitraje.

QUINTANA S, MITTON G, MEDICI S, DE PIANO F, EGUARAS M, MAGGI M, RUFFINENGO S (2014) Detección de la mutación I925v asociada a resistencia a piretroides en *Varroa destructor*. Congreso Latinoamericano de Apicultura, Iguazú, Argentina. 3 al 6 de Septiembre de 2014. Con arbitraje.

DE PIANO FG, MAGGI M, CUGNATA N, PELLEGRINI MC, NEGRI P, SZAWARSKI N, BUFFA F, PORRINI M, AUDISIO MC, RUFFINENGO SR. (2013) Incidencia de *Nosema ceranae* y estado nutricional de colonias de *Apis mellifera* L. alimentadas con productos del metabolismo de *Lactobacillus johnsonii* AJ5 (Distinguido). VIII Encuentro Biólogos En Red. Mar del Plata (Argentina). 14 y 15 de Noviembre de 2013. ISSN: 1853-3426.

DE PIANO FG, MAGGI MD, AUDISIO MC, RUFFINENGO SR. (2013) Efectos de metabolitos bacterianos sobre *Varroa destructor*. I Congreso Internacional Científico y Tecnológico de la Provincia de Buenos Aires. Comisión de Investigaciones Científicas (CIC). La Plata (Argentina). 19 y 20 de Septiembre de 2013.

CUGNATA NM, DE PIANO F, PELLEGRINI MC, ALONSO-SALCES RM, FUSELLI SR. (2013) In vitro antibacterial effect of lauric acid on *Paenibacillus* larvae, causal agent of American foulbrood. AFERP & STOLON International Symposium, Bruselas (Bélgica).

PELLEGRINI MC, ALVAREZ MV, PONCE AG, CUGNATA NM, DE PIANO FG, ALONSO-SALCES RM, FUSELLI SR. (2013) Antiquorum sensing and antimicrobial activity of aromatic species from South America. AFERP & STOLON International Symposium, Bruselas (Bélgica).

**10. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.** (Señalar características del curso o motivo del viaje, duración, instituciones visitadas y si se realizó algún entrenamiento)

CURSOS DE POST-GRADO:

-2014. Diseño Experimental I. Docente responsable Lic. Gloria Monterrubianessi. Carga horaria 24 teóricas y 24 teórico-prácticas. Fac. de Cs. Agrarias (UNMdP).

-2014. Métodos Estadísticos I. Docente responsable Lic. María Gabriela Cendoya. Carga horaria 24 teóricas y 24 teórico-prácticas. Fac. de Cs. Agrarias (UNMdP).

-2013. Fisiología de potenciales bacterias probióticas. Bases para su manipulación, preservación y aplicación. Docente responsable Dra. Marcela Carina Audisio, cuerpo docente Dra. María Cristina Apella y Dra. Adriana Pérez Chaia. Carga horaria 45 teórico-prácticas. Fac. de Ingeniería (UNsa).

-2013. Sanidad Apícola. Docentes: Dra. Norma Sardella, Dr. Jorge Marcangeli. Carga horaria 96 (teóricas) y 75 (teórico-prácticas). Fac. de Cs. Exactas y Naturales (UNMDP). cursada Aprobada.

-2012. Semioquímicos y sus potenciales aplicaciones en el control de plagas. Docentes: Dra. Carmen Rossini, Dra. Sandra Fuselli. Carga horaria 24 (teóricas). Fac. de Cs. Exactas y Naturales (UNMdP) O.C.A. N° 1317/12.

**CURSOS DE CAPACITACIÓN:**

-2013. Capacitación sobre Seguridad en Laboratorios. Unidad Integrada Balcarce. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Docentes: Lic. Leonardo Marcucci, Ing. Agr. Enrique Viviani Rossi, Lic. Walter Glessi.

## **11. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO**

## **12. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO**

## **13. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TÍTULOS ANTERIORES** (Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período)

Admisión a la carrera de DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata. TESIS DOCTORAL: "Metabolitos bacterianos: efectos sobre las principales patologías apícolas y su hospedador *Apis mellifera*". Director: Dr. Sergio Roberto Ruffinengo, Co-directora: Dra. M. Carina Audisio. O.C.A. N° 1772/13.

## **14. TÍTULO DEL PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PERIODO DE PRORROGA O DE CAMBIO DE CATEGORÍA** (Deberá indicarse claramente las acciones a desarrollar)

El plan de trabajo propuesto al momento de solicitar la Beca de Estudio-Concurso BE13 titulado "Metabolitos bacterianos: Evaluación in vitro de su potencial acaricida sobre el ácaro *Varroa destructor* ectoparásito de *Apis mellifera*" contemplaba objetivos a desarrollarse en dos años. Los dos primeros a cumplirse en el transcurso del primer año de beca y los dos últimos durante el segundo.

La evaluación de la toxicidad por contacto de los metabolitos bacterianos sobre *Apis mellifera* planteada en el objetivo 3 se reemplazó por ensayos de supervivencia. Esta decisión se tomó en base al objetivo general del plan de trabajo de la tesis doctoral, cuyo fin es el refuerzo nutricional e inmunológico de la abeja melífera, fortaleciendo de esta forma las colonias y contribuyendo a hacer frente a las principales patologías.

En función de los resultados obtenidos a partir de los ensayos del objetivo 4 se propone (para el período Septiembre 2014-Febrero 2015), estimar la actividad acaricida de los metabolitos bacterianos sobre *Varroa destructor* administrados de forma sistémica a través de la hemolinfa de abejas. Se propone la siguiente metodología:

Se realizará el siguiente bioensayo: abejas nodrizas se alimentarán según el protocolo descrito en el punto 2.1 por un período de tres días. En grupos de 3 serán traspasadas a cápsulas de Petri candy (azúcar impalpable y agua, 2:1) para su alimentación, y se adicionarán 6 hembras adultas de *Varroa destructor*.

Se mantendrán controles negativos para ambos bioensayos con caldo de cultivo y jarabe de azúcar. Se registrará diariamente durante 72 horas la mortalidad de los ácaros luego de su incorporación. Mediante un análisis Probit se estimará la DL50 de *V. destructor* para cada metabolito testeado.

Título del plan de trabajo propuesto para el período de cambio de categoría:

"Metabolitos bacterianos: efecto sobre *Nosema caranae* y parámetros inmunológicos y nutricionales de *Apis mellifera*".

---

### Condiciones de Presentación

- A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Becario, la que deberá incluir:
- a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 14).
  - b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, deben agregarse al término del desarrollo del informe
  - c. Informe del Director de tareas con la opinión del desarrollo del becario (en sobre cerrado).

---

**Nota:** El Becario que desee ser considerado a los fines de una prórroga, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.

.....  
Firma del Director

.....  
Firma del Becario