**ANEXO I**

**ULTRAESTRUTURA DAS CÉLULAS ESTEROIDOGÊNICAS E IMUNOLOCALIZAÇÃO DA 17β - HIDROXIESTEROIDE DESIDROGENASE TIPO 3, EM TESTÍCULOS MADUROS DE *Potamotrygon wallacei* (CHONDRICHTHYES - POTAMOTRYGONIDAE)**

Ruben Dario Morales-Gamba¹; Maria Lúcia Góes de Araújo²; José Fernando Marques Barcellos3; Mariana Gomes do Rego4; Lucas Castanhola Dias5; Jaydione Luiz Marcon6

¹Discente de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Amazonas - UFAM

² Pesquisadora no Departamento de Pesca e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

³Professor do Departamento de Morfologia, Universidade Federal do Amazonas - UFAM

4Pesquisadora no Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

5Pesquisador no Laboratório Temático de Microscopia e Nanotecnologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA

6Professor do Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Amazonas - UFAM

Em elasmobrânquios, a espermatogênese é regulada por esteroides sexuais secretados pelas células de Sertoli e de Leydig presentes nos testículos. No entanto, nas arraias de água doce da América do Sul, o conhecimento sobre a presença ou contribuição destas células nesse processo é ainda incipiente. Este estudo teve como objetivo descrever a ultraestrutura das células esteroidogênicas nos testículos de *Potamotrygon wallacei* e examinar a localização da 17b-hidroxiesteroide desidrogenase tipo 3 (17β-HSD3) como marcador do local de produção de testosterona durante a espermatogênese. Oito machos com largura média do disco (média ± SEM) de 196,5 ± 0,69 mm, e com comprimento de clásper de 58,7 ± 0,12 mm foram analisados e classificados em três estágios maturacionais: machos em regressão (n = 2), machos capazes de reproduzir (n = 2) e machos ativos (n = 4). Para a análise da ultraestrutura gonadal, fragmentos de testículos foram processados seguindo protocolos para microscopia eletrônica de transmissão. Para a análise imuno-histoquímica foram utilizados cortes dos testículos incluídos em parafina, e incubados com anticorpos policlonais anti-17β-HSD3 (PA5-30063 - Thermo Scientific Pierce, Rockford, IL, USA). O estudo ultra estrutural confirmou a presença de células de Sertoli dentro dos espermatocistos e de células de Leydig entre o espaço intersticial. Ambos os tipos celulares apresentam características típicas de células esteroidogênicas, incluindo abundante retículo endoplasmático liso, mitocôndrias e gotículas lipídicas citoplasmáticas. As células de Sertoli mudam de morfologia com o avanço da espermatogênese, possuindo um número reduzido de organelas envolvidas na produção de hormônios esteroides nas zonas espermatogônia e espermatócito. Em contraste, nas células de Sertoli das zonas espermiogênicas foi observado um incremento dessas organelas. As analises imuno-histoquímicas mostraram que na zona espermatogônia há imunorreatividade positiva à 17β-HSD3 em células de Sertoli e das espermatogônias. Nas zonas espermátide e espermatozoide estas células também apresentaram imunorreatividade positiva à 17β-HSD3. As células de Leydig foram observadas em todas as zonas espermáticas analisadas e apresentaram imunorreatividade positiva à 17β-HSD3. Esses achados demonstram a participação ativa das células de Sertoli e de Leydig na produção de testosterona nos testículos de *P. wallacei*. Além disso, elucidam em parte o controle dos esteroides sexuais durante a espermatogênese dos elasmobrânquios.

Palavras-chave: célula de Leydig, célula de Sertoli, espermatócito, espermatogênese, espermiogênese.

Apoio Financeiro:

FAPEAM - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas

PNPD/CAPES - Programa Nacional de Pós-Doutorado/CAPES