



Comparação de Diluidores Comerciais na Preservação de Sémen Refrigerado de Burros de Raça Andaluza

Joana Pinto Rodrigues¹, Carolina Silva^{1,2}, Vanessa Gomez-Arrones³, Elvira Matilla Pinto^{1,2}

¹Escola Superior de Biociências de Elvas, Instituto Politécnico de Portalegre, Portugal

²Valoriza - Research Centre of Endogenous Resource Valorization, Portugal

³Centro de Seleção e Reprodução Animal, CENSYRA (Badajoz), Espanha

17as Jornadas Internacionais Hospital Veterinário Muralha Évora -
2026

Introdução

- O burro Andaluz encontra-se em risco de extinção
- Conservação
- Inseminação artificial é uma ferramenta relevante
- Em asininos utilizam-se diluidores formulados para equinos
- A resposta do sémen asinino a estes diluidores permanece pouco esclarecida



Refrigeração

A refrigeração compromete a integridade da membrana espermática → fertilidade vai diminuindo com o passar das horas

O plasma seminal pode tornar-se prejudicial durante o armazenamento prolongado

A centrifugação permite remover parcialmente o plasma → aumenta a motilidade progressiva

Objetivos

- Objetivo geral – comparar diluidores comerciais na preservação de sémen refrigerado de burros Andaluzes
- Objetivos específicos:
 - Comprovar se existem diferenças estatisticamente significativas das motilidades do sémen a fresco e refrigerado até às 96h após adição dos diluidores
 - Comparar os diluidores nos diferentes burros
 - Avaliar o efeito da refrigeração prolongada na qualidade espermática

Materiais e Métodos

Animais

- 3 asininos
- Idades – 6-10 anos
- Centro de Seleção e Reprodução Animal (CENSYRA), Badajoz
- Fertilidade Comprovada
- Regime reprodutivo regular → pelo menos uma recolha semanal
- Método de recolha – vagina artificial “Missouri”



Diluidores Comerciais Utilizados

- INRA96® (com e sem centrifugação prévia)
- BotuSemen Gold®
- SperVital EVD Plus®
- SperVital EVD Excellent®
- SperVital EVD Special®
- Diluidores comerciais formulados para equinos




Diluidores Comerciais Utilizados


- Objetivo geral dos diluidores – proteger espermatozoides e prolongar a sua viabilidade
- Funções principais:
 - Aumentar a longevidade celular
 - Reduzir efeitos nocivos do plasma seminal
 - Controlar pH e osmolaridade
 - Fornecer nutrientes
 - Inibir crescimento microbiano

Processamento

Recolha com vagina artificial



Filtração para remoção da fração de gel



Avaliação inicial (volume, pH e concentração)



**Centrifugação
600xg 10 min**



**Centrifugação
600xg 10 min**



**Adição de
diluidor
Spervital EVD
Plus® ao pellet**



**Centrifugação
600xg 10 min**



Ejaculado



**Centrifugação
600xg 10 min**



**Adição de
diluidor Spervital
EVD Special® ao
pellet**

**Adição de
diluidor
BotuSemen
Gold® ao pellet**



**Adição de
diluidor
INRA96® ao
sêmen**



**Centrifugação
600xg 10 min**



**Adição de
diluidor
INRA96® ao
pellet**

**Ajuste da concentração final
para 25×10^6 spz/ml e
foram avaliadas as
motilidades a fresco e até às
96h de refrigeração a 5°C**

Avaliação Microscópica do Sêmen

- Sistema CASA – elimina variações nas estimativas de motilidade
- Motilidade Progressiva (MP) – percentagem de espermatozoides com movimento progressivo efetivo
- Motilidade Total (MT) – percentagem total de espermatozoides móveis



Análise Estatística

- Programa SigmaPlot versão 13
- Análise estatística por meio de ANOVA de uma via
- Teste de comparações múltiplas de Holm-Sidak para dados com distribuição normal e homogeneidade de variâncias
- Teste de Dunn's quando as premissas de normalidade não foram atendidas
- Resultados apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM)
- Consideraram-se diferenças estatisticamente significativas quando $p < 0,05$

Resultados

A fresco (0h)

Tratamento	n	MP (%)	MT(%)
Centrifugação + INRA96®	12	61,75±2,61 ^{a,b}	83,00±2,98
INRA96®	12	62,25±1,14 ^{a,b}	87,16±0,96
BotuSemen Gold®	12	61,83±1,74 ^{a,b}	87,58±1,81
SperVital EVD Plus®	10	59,40±2,33 ^{a,b}	78,80±2,47
SperVital EVD Excellent®	12	65,83±3,72 ^a	82,00±4,18
SperVital EVD Special®	9	55,33±2,03 ^b	86,11±2,32

- MP – SperVital EVD Excellent® ↑ vs. SperVital EVD Special® ($p < 0,05$)
- MT – não se observaram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$)

24h

Tratamento	n	MP (%)	MT (%)
Centrifugação + INRA96®	12	55,16±2,56 ^a	70,75±3,8
INRA96®	12	29,25±5,55 ^b	39,08±7,23 ^a
BotuSemen Gold®	12	59,58±4,10 ^{a,c}	77,58±5,28 ^b
SperVital EVD Plus®	10	52,60±4,50	69,60±4,16
SperVital EVD Excellent®	12	52,41±4,93 ^{a,b}	66,16±5,3
SperVital EVD Specia®	9	49,88±1,76 ^{a,b}	82,00±2,81 ^{b,c}

- MP – INRA96® sem centrifugação ↓ vs. SperVital EVD Special® e BotuSemen Gold® ($p < 0,05$)
- MT – INRA96® sem centrifugação ↓ vs. INRA96® com centrifugação e BotuSemen Gold® ($p < 0,05$)

48h

Tratamento	n	MP (%)	MT(%)
Centrifugação + INRA96®	12	51,41±3,7 ^{a,c}	67,33±5,15 ^{a,c,d}
INRA96®	12	19,50±4,5 ^b	26,66±5,66 ^{b,d}
BotuSemen Gold®	12	57,83±3,84 ^{a,c}	73,25±5,17 ^{a,c}
SperVital EVD Plus®	10	44,00±7,55 ^{a,c}	54,80±9,06 ^{a,d}
SperVital EVD Excellent®	12	35,16±5,6 ^{a,b}	47,00±7,16 ^{a,b}
SperVital EVD Special®	9	49,33±3,73 ^{a,c}	83,66±2,86 ^c

- MP – INRA96® sem centrifugação ↓ vs. INRA96® com centrifugação, BotuSemen Gold®, SperVital EVD Plus® e SperVital EVD Special® ($p < 0,05$)
- MT – INRA96® sem centrifugação ↓ vs. BotuSemen Gold® e SperVital EVD Special® | SperVital EVD Special® ↑ vs. INRA96® com centrifugação, SperVital EVD Plus® e SperVital EVD Excellent® ($p < 0,05$)

72h

Tratamento	n	MP (%)	MT (%)
Centrifugação + INRA96®	12	41,16±6,76 ^{a,c}	56,83±8,48 ^{a,d}
INRA96®	12	13,41±4,67 ^b	19,50±6,56 ^{b,c}
BotuSemen Gold®	12	51,58±5,27 ^a	65,58±6,32 ^{a,d}
SperVital EVD Plus®	10	31,90±8,17 ^{a,b,c}	39,90±9,66 ^{c,d}
SperVital EVD Excellent®	12	19,33±7,31 ^{a,b,c}	26,41±8,45 ^{b,c}
SperVital EVD Special®	9	46,77±2,40 ^a	84,11±3,19 ^a

- MP – INRA96® sem centrifugação ↓ vs. BotuSemen Gold®, SperVital EVD Special® e INRA96® com centrifugação | SperVital EVD Excellent® ↓ vs. SperVital EVD Special® e BotuSemen Gold® ($p < 0,05$)
- MT – INRA96® sem centrifugação ↓ vs. INRA96® com centrifugação e BotuSemen Gold® | SperVital EVD Excellent® ↓ vs. BotuSemen Gold®, SperVital EVD Special® e INRA96® com centrifugação ($p < 0,05$)

96h

Tratamento	n	MP (%)	MT (%)
Centrifugação + INRA96®	12	8,75±3,75 ^{b,c,d}	10,91±4,67 ^{b,c}
INRA96®	12	0,25±0,25 ^e	0,50±0,33 ^d
BotuSemen Gold®	12	43,25±5,27 ^a	54,33±5,97 ^a
SperVital EVD Plus®	10	12,00±4,07 ^{c,d,e}	15,90±5,60 ^{c,d}
SperVital EVD Excellent®	12	5,41±2,23 ^{b,c,e}	8,00±3,49 ^{b,d}
SperVital EVD Special®	9	40,66±2,94	73,33±5,84 ^a

- MP – BotuSemen Gold® ↑ vs. INRA96® com centrifugação, INRA96® sem centrifugação, SperVital EVD Plus® e SperVital EVD Excellent® ($p < 0,05$)
- MT – SperVital EVD Special® ↑ vs. INRA96® com centrifugação, INRA96® sem centrifugação, SperVital EVD Plus® e SperVital EVD Excellent® ($p < 0,05$)

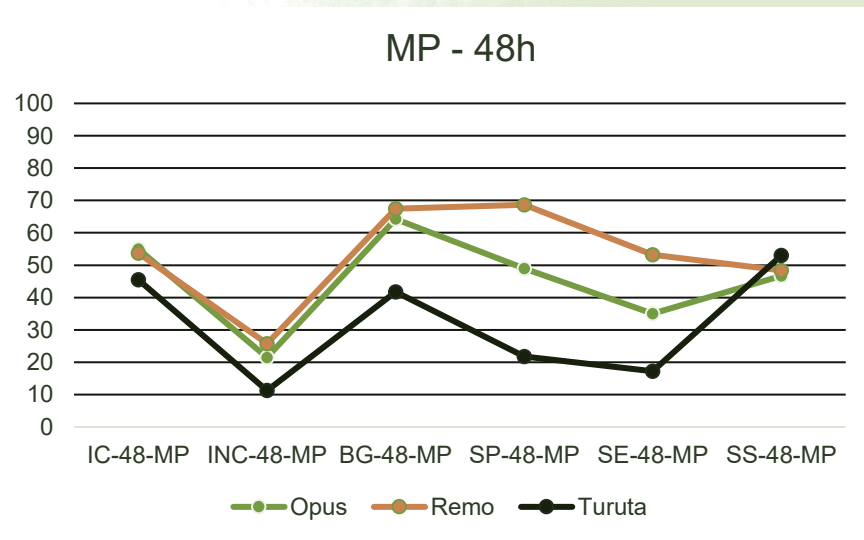
Análise Individual

Motilidade Progressiva - 0h, 24h, 72h e 96h

- Nestes tempos não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os diluidores em nenhum dos três animais ($p > 0,05$)

Motilidade Progressiva - 48h

- **Opus** – Diferenças entre o BotuSemen Gold[®] e o INRA96[®] sem centrifugação ($p < 0,05$)
- **Remo** – INRA96[®] sem centrifugação inferior ao BotuSemen Gold[®] e SperVital EVD Plus[®] ($p < 0,05$)
- **Turuta** – INRA96[®] sem centrifugação inferior ao SperVital EVD Special[®] ($p < 0,05$)

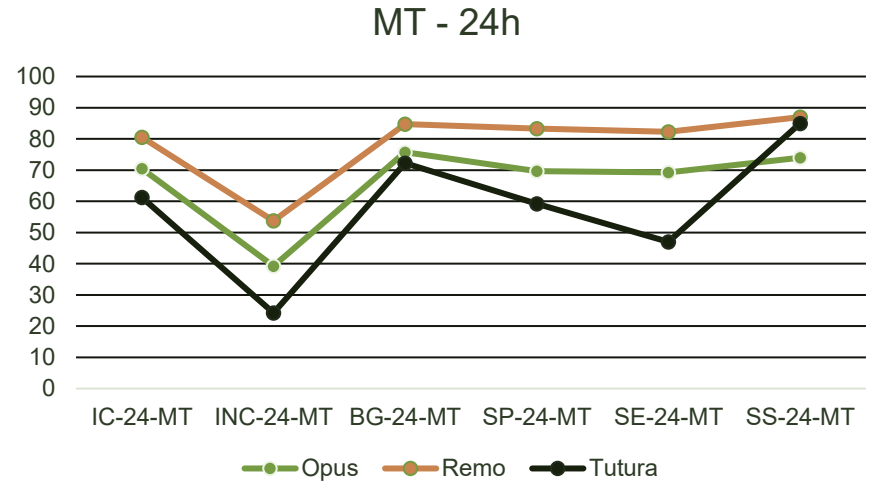


Motilidade Total – 0h, 48h, 72h e 96h

- Nestes tempos não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os diluidores em nenhum dos três animais ($p > 0,05$)

Motilidade Total – 24h

- Apenas se observaram diferenças no burro **Turuta** – BotuSemen Gold® superior ao INRA96® sem centrifugação porém inferior ao SperVital EVD Special® ($p < 0,05$)



Síntese Temporal

Tempo	Melhor Desempenho	Pior Desempenho
0h	Todos semelhantes	-
24h	BotuSemen Gold® e SperVital EVD Special®	INRA96® sem centrifugação prévia da amostra
48h	BotuSemen Gold® e SperVital EVD Special®	INRA96® sem centrifugação prévia da amostra
72h	BotuSemen Gold®, SperVital EVD Special® e INRA96® com centrifugação prévia da amostra	SperVital EVD Excellent® e INRA96® sem centrifugação prévia da amostra
96h	BotuSemen Gold® e SperVital EVD Special®	INRA96® sem centrifugação prévia da amostra

Discussão

Contexto Geral

- A inseminação artificial em asininos é limitada pela ausência de diluidores específicos
- São utilizados diluidores formulados para equinos (base – leite, caseína e gema de ovo)
- Centrifugação – melhora a motilidade progressiva através da remoção do plasma seminal
- Plasma seminal:
 - Vantagem – proteção (antioxidantes)
 - Desvantagem – redução da motilidade durante armazenamento (componentes potencialmente prejudiciais)

Centrifugação

Armazenamento prolongado do plasma seminal

Pode reduzir a motilidade espermática

Centrifugação para remoção do plasma seminal

Efeito positivo na motilidade e na integridade da membrana plasmática

INRA96® sem centrifugação

↓
Piores resultados

INRA96® com centrifugação

↓
Melhores resultados

Motilidade

Valores de referência:

- MT > 70%
- MP – 50-60%

Melhor desempenho:
BotuSemen Gold®
e SperVital EVD
Special®

Pior desempenho:
INRA96® sem
centrifugação



Limitações

- Número reduzido de animais ($n = 3$), limitando a força estatística
- Dificuldade na recolha de sémen em burros (necessidade de treino e presença de fêmeas em estro)
- Variabilidade individual na resposta aos diluidores (necessidade de protocolos individualizados)
- Ausência de diluidores específicos para asininos

Comparação com Equinos

Os diluidores utilizados foram desenvolvidos para sémen equino

Existem diferenças anatómicas e fisiológicas entre asininos e equinos

A resposta aos diluidores pode variar entre espécies

Seria relevante, em estudos futuros, realizar uma comparação direta entre equinos e asininos utilizando os mesmos protocolos

Conclusões

- A refrigeração reduz a motilidade espermática em todos os diluidores
- BotuSemen Gold® e SperVital EVD Special® demonstraram maior eficácia, sobretudo após 48h
- O INRA96® sem centrifugação da amostra apresentou os piores resultados, reforçando a importância da remoção do plasma seminal
- São necessários estudos com maior número de animais para validar a eficácia dos diluidores comerciais em asininos

**Grata pela
atenção!**

