

O uso de um diluente adequado é essencial para a proteção do espermatozóide equino durante sua estocagem. Entre os inúmeros meios de preservação para o sêmen equino, o leite é o mais utilizado, pois protege os espermatozoides dos efeitos nocivos causados pelo rápido resfriamento do sêmen. Atribui-se às lipoproteínas do leite as propriedades protetoras da membrana plasmática das células espermáticas. O objetivo da pesquisa foi de verificar o meio de preservação que apresenta os melhores resultados na avaliação *in vitro* comparativamente ao sêmen fresco. O estudo foi realizado com sêmen equino de dois garanhões da raça Puro Sangue de Corrida. A análise *in vitro* considerou a motilidade total e progressiva e a integridade física e funcional da membrana as zero, 24 e 48 horas. Para tanto, o sêmen foi refrigerado a 5 graus C, em diluente a base de leite e em diluente comercial Equidil® (produzido pelo Embryolab/UFSM). Foram realizadas 18 coletas de sêmen dos garanhões. Não foram encontradas diferenças significativas entre os diluentes na motilidade total e progressiva às zero, 24 e 48 horas, do sêmen equino refrigerado a 5 graus C. Os resultados mostram uma maior proteção da membrana plasmática conferida através do leite desnatado, embora o Equidil® seja um diluente à base de leite em pó desnatado, glicose e bicarbonato de sódio. O leite preservou melhor a funcionalidade da membrana espermática nas 24 h em comparação com o Equidil®. O leite desnatado apresentou melhores resultados na avaliação da integridade de membrana nas 24 h e 48 h do sêmen equino refrigerado a 5 graus C.