



Supplementary Materials

Table S1: Metabolites assigned in the ejaculates, seminal plasma and spermatozoa from human samples. Note: TCA= tricarboxylic acid cycle; PPP= pentose phosphate pathway.

NMR	Metabolite	Abbreviation	Metabolism
¹ H	Choline	CHO	Lipid
	Citrate	CIT	TCA
	Tyrosine	Tyr	Amino acid
	Glutamine	Gln	Amino acid
	Phenylalanine	Phe	Amino acid
	Lactate	LAC	Glycolysis
³¹ P	Glycerophosphoinositol	GPI	Lipid
	Glycerophosphoethanolamine	GPE	Lipid
	Glycerophospho(N-biotin)ethanolamine	GP(N-biotin)E	Lipid
	Glycerophospho(monomethyl)ethanolamine	GP(monomethyl)E	Lipid
	Glycerophospho(dimethyl)ethanolamine	GP(dimethyl)E	Lipid
	Phosphocholine	PCh	Lipid
	Glycerophosphocholine	GPC	Lipid
	Glucose 1-phosphate	G1P	Glycogenolysis
	Glucose 6-phosphate	G6P	Glycolysis
	Sedoheptulose 7-phosphate and Fructose 1,6-bisphosphate	S7P&FBP	PPP/Glycolysis
	6-Phosphogluconic acid	6PG	PPP
	Acetyl phosphate	AcP	Other
	Xylulose 5-phosphate	X5P	PPP
	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced form	NADPH	Energy
	Nucleotide monophosphate	NMP	Nucleotide
	Cyclic nucleotide monophosphate	NMPc	Nucleotide
	Phosphodiester unknown 1	PDE1	Unknown
	Phosphodiester unknown 2	PDE2	Unknown
	Phosphodiester unknown 3	PDE3	Unknown
	Phosphodiester unknown 4	PDE4	Unknown

Table S2: Complete list of information of each metabolite concentration in the seminal plasma (SP) samples.

Metabolite	Seminal plasma samples (nmol/μL)																			
	Donors with normozoospermia										Donors with asthenozoospermia									
	Mean	SEM	STD	1	2	3	4	5	6	7	Mean	SEM	STD	1	2	3	4	5	6	
CHO *	25.05	2.38	6.30	18.57	27.23	30.16	30.15	27.21	28.18	13.88	16.00	2.57	6.30	25.89	18.06	15.66	17.64	11.04	7.68	
Citrate	18.48	0.72	1.91	18.86	19.45	17.50	15.69	18.12	21.87	17.90	19.38	0.92	2.25	23.40	19.81	18.22	16.92	18.19	19.70	
Tyr *	5.34	0.43	1.14	7.05	5.45	4.78	5.25	5.92	5.64	3.32	3.64	0.57	1.39	5.11	1.78	3.45	5.17	3.91	2.40	
LAC	3.72	1.07	2.82	2.89	2.70	1.81	2.41	3.09	3.13	10.03	3.06	0.31	0.77	2.72	2.10	3.68	2.46	4.12	3.30	
Gln	2.36	0.05	0.14	2.37	2.38	2.33	2.40	2.08	2.51	2.48	2.43	0.04	0.09	2.45	2.44	2.38	2.59	2.37	2.33	
Phe*	2.28	0.20	0.52	2.83	2.35	2.18	2.38	2.45	2.56	1.20	1.53	0.27	0.67	2.15	0.65	1.28	2.41	1.62	1.07	
GPC	9.85	1.83	4.84	12.12	7.52	6.26	8.03	7.35	7.66	19.99	8.93	1.30	3.19	9.64	9.71	3.65	7.64	13.37	9.55	
GPI	1.82	0.17	0.45	1.39	2.71	1.40	1.89	1.64	1.80	1.91	1.20	0.25	0.61	1.85	0.86	0.44	1.91	1.39	0.74	
NMP	1.10	0.26	0.68	0.19	1.51	1.69	1.27	1.51	1.46	0.05	1.10	0.21	0.51	1.46	1.71	0.90	1.47	0.56	0.51	
GP(dimethyl)E	0.67	0.05	0.13	0.59	0.76	0.80	0.47	0.59	0.83	0.63	0.59	0.04	0.10	0.61	0.58	0.66	0.38	0.64	0.64	
GPE	0.49	0.17	0.44	0.59	0.36	0.27	0.21	0.24	0.33	1.45	0.48	0.13	0.32	0.26	0.63	0.23	0.20	1.01	0.55	
G1P	0.20	0.05	0.13	0.29	0.13	0.13	0.12	0.12	0.15	0.45	0.39	0.11	0.26	0.11	0.34	0.39	0.12	0.76	0.59	
G6P	0.37	0.07	0.19	0.08	0.35	0.32	0.32	0.35	0.43	0.71	0.18	0.06	0.14	0.31	0.32	0.02	0.28	0.08	0.06	
Pcho *	0.05	0.01	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.09	0.53	0.44	1.07	0.05	2.70	0.25	0.04	0.07	0.06	
S7P&FBP	0.17	0.04	0.10	0.35	0.17	0.12	0.13	0.16	0.21	0.03	0.09	0.03	0.07	0.19	0.05	0.04	0.17	0.04	0.04	
PDE2	0.08	0.01	0.02	0.09	0.09	0.08	0.05	0.09	0.07	0.10	0.07	0.02	0.04	0.07	0.09	0.05	0.05	0.14	0.04	

6PG	0.06	0.01	0.03	0.04	0.07	0.06	0.05	0.07	0.11	0.03	0.06	0.01	0.03	0.06	0.08	0.05	0.06	0.02	0.10
NADPH	0.054	0.015	0.041	0.09	0.03	0.03	0.02	0.03	0.05	0.13	0.047	0.010	0.024	0.03	0.08	0.02	0.03	0.07	0.05
PDE4	0.054	0.012	0.030	0.08	0.03	0.05	0.03	0.05	0.03	0.11	0.043	0.007	0.018	0.05	0.04	0.01	0.05	0.05	0.06
GP(N-biotin)E	0.050	0.007	0.018	0.03	0.05	0.03	0.04	0.06	0.06	0.08	0.035	0.008	0.021	0.04	0.03	0.01	0.02	0.04	0.07
PDE1	0.046	0.003	0.008	0.05	0.04	0.04	0.04	0.05	0.06	0.04	0.038	0.004	0.010	0.04	0.04	0.04	0.02	0.05	0.04
AcP	0.026	0.004	0.010	0.01	0.03	0.04	0.02	0.03	0.03	0.02	0.030	0.007	0.018	0.02	0.04	0.01	0.02	0.06	0.03
NMPc	0.029	0.005	0.012	0.01	0.04	0.04	0.03	0.04	0.02	0.02	0.023	0.004	0.010	0.04	0.02	0.01	0.03	0.02	0.02
X5P	0.020	0.000	0.000	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.020	0.000	0.000	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
GP(monomethyl)E	0.026	0.006	0.017	0.01	0.03	0.02	0.03	0.04	0.05	0.00	0.012	0.006	0.015	0.03	0.00	0.00	0.03	0.01	0.00
PDE3	0.010	0.000	0.000	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.010	0.000	0.000	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Semen volume (mL)	3.071	0.561	1.484	2.00	3.00	4.00	6.00	2.00	2.50	2.00	3.17	0.38	0.93	3.50	4.00	1.50	4.00	3.00	3.00

Table S3: Complete list of information of each metabolite concentration in unprocessed semen samples. Note: ND= no data.

Whole semen samples (nmol/μL)																				
Donors with normozoospermia											Donors with asthenozoospermia									
Metabolite	Mean	SEM	STD	1	2	3	4	5	6	7	Mean	SEM	STD	1	2	3	4	5	6	
CHO *	27.07	2.94	7.21	ND	34.60	29.37	22.92	31.17	29.79	14.55	16.41	3.39	7.59	28.12	ND	14.90	19.13	10.08	9.82	
Citrate	26.20	1.91	4.67	ND	23.86	32.17	23.91	31.37	20.23	25.63	22.09	1.45	3.25	20.82	ND	21.02	18.24	23.51	26.85	
Tyr *	5.70	0.57	1.39	ND	6.22	5.94	5.05	7.85	5.48	3.63	3.53	0.46	1.04	4.94	ND	2.91	4.32	2.92	2.57	
Gln	4.11	0.51	1.25	ND	4.95	5.17	4.14	5.17	2.25	2.95	3.06	0.58	1.29	1.32	ND	4.16	2.06	3.63	4.12	
LAC	4.03	1.34	3.28	ND	2.36	2.09	4.38	2.22	2.63	10.50	3.15	0.49	1.11	1.67	ND	3.29	2.47	3.84	4.47	
Phe *	2.21	0.22	0.54	ND	2.82	1.88	2.14	2.79	2.21	1.42	1.57	0.26	0.58	2.45	ND	1.19	1.86	1.25	1.10	
GPC	9.06	1.18	2.88	ND	8.13	6.65	10.34	7.95	6.97	14.32	9.09	1.01	2.27	10.74	ND	7.52	8.41	12.11	6.68	
GP(dimethyl)E	0.70	0.02	0.05	ND	0.67	0.73	0.68	0.65	0.79	0.69	0.69	0.03	0.07	0.73	ND	0.71	0.57	0.70	0.72	
GPE	0.69	0.09	0.22	ND	0.78	0.73	0.66	0.67	0.32	0.98	0.64	0.07	0.15	0.61	ND	0.49	0.66	0.88	0.54	
NMP	0.57	0.10	0.25	ND	0.80	0.74	0.61	0.67	0.48	0.10	0.78	0.15	0.35	0.75	ND	1.32	0.87	0.52	0.45	
GPI	0.43	0.14	0.34	ND	0.22	0.31	0.60	0.22	0.18	1.06	0.71	0.24	0.53	0.22	ND	0.70	0.16	1.27	1.22	
G6P	0.59	0.07	0.16	ND	0.65	0.74	0.47	0.79	0.38	0.53	0.38	0.17	0.39	0.70	ND	0.13	0.90	0.13	0.06	
G1P	0.09	0.01	0.04	ND	0.11	0.10	0.02	0.10	0.11	0.11	0.46	0.25	0.55	0.09	ND	0.34	0.10	1.42	0.33	
PCho	0.13	0.02	0.04	ND	0.15	0.18	0.13	0.14	0.14	0.05	0.19	0.07	0.16	0.12	ND	0.47	0.14	0.10	0.13	
S7P&FBP	0.11	0.01	0.04	ND	0.13	0.13	0.11	0.13	0.13	0.04	0.09	0.02	0.05	0.13	ND	0.12	0.13	0.04	0.04	
PDE1	0.09	0.01	0.03	ND	0.12	0.12	0.09	0.07	0.05	0.08	0.08	0.00	0.01	0.08	ND	0.09	0.08	0.09	0.08	
6PG	0.07	0.01	0.02	ND	0.07	0.07	0.08	0.07	0.07	0.03	0.07	0.01	0.03	0.07	ND	0.11	0.07	0.02	0.09	

PDE2	0.06	0.01	0.02	ND	0.05	0.05	0.09	0.05	0.04	0.09	0.08	0.01	0.03	0.07	ND	0.10	0.09	0.10	0.04
NADPH	0.05	0.01	0.01	ND	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	0.08	0.04	0.01	0.02	0.04	ND	0.07	0.03	0.06	0.02
PDE4	0.05	0.01	0.01	ND	0.04	0.04	0.04	0.06	0.04	0.07	0.04	0.01	0.01	0.04	ND	0.03	0.03	0.04	0.06
NMPc	0.04	0.01	0.02	ND	0.04	0.06	0.03	0.04	0.04	0.01	0.04	0.01	0.02	0.06	ND	0.02	0.04	0.01	0.06
GP(N-biotin)E	0.05	0.00	0.01	ND	0.04	0.05	0.04	0.06	0.05	0.05	0.04	0.01	0.02	0.05	ND	0.02	0.04	0.03	0.06
PDE3	0.03	0.00	0.01	ND	0.04	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.00	0.00	0.03	ND	0.03	0.03	0.03	0.03
GP(monome- thyl)E	0.04	0.01	0.02	ND	0.05	0.05	0.03	0.05	0.05	0.01	0.03	0.01	0.02	0.05	ND	0.01	0.05	0.01	0.01
AcP	0.03	0.00	0.01	ND	0.03	0.02	0.03	0.04	0.02	0.02	0.04	0.01	0.01	0.03	ND	0.03	0.03	0.06	0.04
X5P	0.02	0.00	0.00	ND	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.00	0.00	0.02	ND	0.02	0.02	0.02	0.02

Table S4: Complete list of information of each metabolite concentration in the spermatozoa samples (CELL) analyzed from donors with normozoospermia.

		Spermatozoa samples (nmol/Millions of cells)						
		Donors with normozoospermia						
NMR	Metabolite	1	2	3	4	5	6	7
1H	Citrate	37.02	13.44	11.78	20.97	18.18	31.18	16.59
1H	CHO	15.18	12.22	13.67	20.63	12.79	27.20	12.47
1H	Tyr	5.10	2.34	3.06	2.80	2.99	7.48	2.98
1H	LAC	7.25	1.07	1.17	1.65	2.88	3.05	9.23
1H	Gln	6.21	1.69	2.45	3.21	2.80	4.63	2.57
1H	Phe	1.95	1.16	1.89	1.95	1.79	3.53	1.27
31P	GPC	6.50	2.74	2.97	4.14	4.53	9.88	4.20
31P	NMP	1.01	1.40	1.59	1.67	1.82	4.28	0.16
31P	S7P&FBP	0.03	0.53	0.56	0.89	0.54	1.28	0.00
31P	GPE	0.29	0.30	0.24	0.37	0.31	0.48	0.24
31P	G1P	0.13	0.34	0.13	0.43	0.29	0.95	0.10
31P	GPI	0.49	0.19	0.16	0.28	0.28	0.28	0.41
31P	G6P	0.07	0.15	0.15	0.24	0.11	0.33	0.04
31P	PCho	0.16	0.06	0.05	0.07	0.07	0.13	0.03
31P	PDE4	0.03	0.07	0.07	0.09	0.05	0.15	0.03
31P	PDE3	0.13	0.05	0.05	0.07	0.07	0.10	0.06
31P	PDE2	0.03	0.03	0.05	0.09	0.07	0.10	0.03
31P	GP(dimethyl)E	0.10	0.05	0.03	0.06	0.05	0.08	0.04
31P	GP(N-biotin)E	0.00	0.03	0.05	0.04	0.05	0.10	0.01
31P	X5P	0.07	0.02	0.02	0.04	0.03	0.05	0.03
31P	PDE1	0.07	0.02	0.02	0.04	0.03	0.05	0.03
31P	6PG	0.03	0.03	0.02	0.04	0.03	0.05	0.00
31P	NMPc	0.00	0.02	0.02	0.06	0.02	0.05	0.00
31P	AcP	0.00	0.02	0.02	0.04	0.02	0.03	0.01
31P	GP(monomethyl)E	0.03	0.01	0.02	0.02	0.02	0.03	0.00
31P	NADPH	0.03	0.01	0.01	0.02	0.02	0.03	0.01

Table S5: Overrepresented pathways using the phosphorylated metabolites identified and quantificated by ^{31}P -NMR in the ejaculate, seminal plasma and spermatozoa from human.

Metabolic pathway	<i>p</i> -value	Metabolite
Pentose phosphate pathway	2.29×10^{-5}	X5P 6PG G6P S7P
Signal transduction/ cell signaling	4.10×10^{-5}	NMP NMPc
Metabolic pathways	5.63×10^{-5}	NADPH NMP G6P G1P Pch AcP X5P 6PG FBP GPC GPI GPE S7P
Glycerophospholipid metabolism	9.89×10^{-5}	Pch GPC GPI GPE GP(N-biotin)E GP(dimethyl)E GP(monomethyl)E
Purine metabolism	1.43×10^{-3}	NMP NMPc
Starch and sucrose metabolism	2.46×10^{-3}	G6P G1P
Glycolysis / Glycogenolysis	1.25×10^{-2}	G6P G1P
Inositol phosphate metabolism	1.94×10^{-2}	G6P GPI
Pentose and glucuronate interconversions	3.44×10^{-2}	G1P X5P
Biosynthesis of secondary metabolites	3.36×10^{-1}	NMP G6P G1P X5P 6PG S7P

Table S6: Complete list of the relative amounts of each metabolite in spermatozoa (CELL) and seminal plasma (SP) from each donor.

Metabolite	Donors with normozoospermia																			
	Relative amounts of metabolites in spermaozoa (%)										Relative amounts of metabolites in seminal plasma (%)									
	Mean	SEM	STD	1	2	3	4	5	6	7	Mean	SEM	STD	1	2	3	4	5	6	7
Citrate **	41.39	1.99	5.26	50.92	42.09	34.62	40.94	43.90	40.46	36.77	32.42	1.32	3.49	35.88	32.66	29.78	26.92	30.78	34.23	36.67
CHO **	33.35	2.75	7.27	20.88	38.28	40.18	40.28	30.87	35.30	27.64	43.27	3.22	8.52	35.32	45.72	51.33	51.73	46.22	44.11	28.44
Tyr	7.48	0.54	1.43	7.02	7.34	9.00	5.47	7.22	9.70	6.61	9.34	0.78	2.06	13.41	9.15	8.13	9.01	10.06	8.83	6.80
LAC	7.34	2.38	6.31	9.97	3.34	3.44	3.23	6.94	3.96	20.46	6.85	2.30	6.09	5.50	4.53	3.08	4.14	5.25	4.90	20.55
Gln **	6.54	0.41	1.08	8.54	5.31	7.20	6.27	6.75	6.00	5.70	4.16	0.19	0.50	4.51	4.00	3.97	4.12	3.53	3.93	5.08
Phe	3.91	0.38	1.01	2.68	3.64	5.56	3.81	4.32	4.57	2.82	3.96	0.32	0.86	5.38	3.95	3.71	4.08	4.16	4.01	2.46
GPC	56.52	4.69	12.41	70.67	44.95	47.58	47.65	54.07	53.74	76.96	62.81	3.67	9.70	75.42	53.75	54.67	62.64	58.85	57.08	77.27
NMP *	18.09	3.08	8.16	10.95	23.05	25.46	19.23	21.71	23.27	2.98	8.54	2.11	5.59	1.18	10.79	14.76	9.91	12.09	10.88	0.19
S7P&FBP	5.95	1.57	4.15	0.35	8.76	8.92	10.26	6.40	6.94	0.00	1.20	0.24	0.62	2.18	1.22	1.05	1.01	1.28	1.56	0.12
GPE	3.84	0.30	0.79	3.18	4.95	3.90	4.27	3.68	2.59	4.34	2.89	0.51	1.36	3.67	2.57	2.36	1.64	1.92	2.46	5.60
G1P **	3.49	0.65	1.73	1.41	5.52	2.04	4.91	3.49	5.17	1.90	1.23	0.14	0.38	1.80	0.93	1.14	0.94	0.96	1.12	1.74
GPI	3.79	0.76	2.02	5.30	3.05	2.60	3.21	3.29	1.50	7.59	12.70	1.50	3.96	8.65	19.37	12.23	14.74	13.13	13.41	7.38
G6P	1.76	0.31	0.83	0.71	2.48	2.42	2.78	1.36	1.77	0.81	2.43	0.33	0.89	0.50	2.50	2.79	2.50	2.80	3.20	2.74
Pcho **	0.90	0.15	0.40	1.77	0.95	0.74	0.85	0.78	0.68	0.54	0.30	0.02	0.06	0.19	0.29	0.35	0.31	0.32	0.30	0.35
PDE4 **	0.80	0.12	0.32	0.35	1.14	1.12	1.07	0.58	0.82	0.54	0.35	0.05	0.12	0.50	0.21	0.44	0.23	0.40	0.22	0.43
PDE3 **	0.88	0.11	0.28	1.41	0.76	0.74	0.85	0.78	0.54	1.08	0.07	0.01	0.02	0.06	0.07	0.09	0.08	0.08	0.07	0.04
PDE2	0.66	0.09	0.23	0.35	0.57	0.74	1.07	0.78	0.54	0.54	0.56	0.05	0.14	0.56	0.64	0.70	0.39	0.72	0.52	0.39

GP(dimethyl)E **	0.69	0.08	0.21	1.06	0.76	0.56	0.64	0.58	0.41	0.81	4.73	0.60	1.59	3.67	5.43	6.99	3.67	4.72	6.18	2.44
GP(N-biotin)E	0.45	0.09	0.25	0.00	0.57	0.74	0.43	0.58	0.54	0.27	0.34	0.04	0.10	0.19	0.36	0.26	0.31	0.48	0.45	0.31
X5P **	0.44	0.05	0.14	0.71	0.38	0.37	0.43	0.39	0.27	0.54	0.14	0.01	0.03	0.12	0.14	0.17	0.16	0.16	0.15	0.08
PDE1	0.44	0.05	0.14	0.71	0.38	0.37	0.43	0.39	0.27	0.54	0.32	0.04	0.09	0.31	0.29	0.35	0.31	0.40	0.45	0.15
6PG	0.34	0.07	0.18	0.35	0.57	0.37	0.43	0.39	0.27	0.00	0.45	0.09	0.23	0.25	0.50	0.52	0.39	0.56	0.82	0.12
NMPc	0.27	0.09	0.23	0.00	0.38	0.37	0.64	0.19	0.27	0.00	0.21	0.04	0.12	0.06	0.29	0.35	0.23	0.32	0.15	0.08
AcP	0.25	0.06	0.15	0.00	0.38	0.37	0.43	0.19	0.14	0.27	0.19	0.04	0.10	0.06	0.21	0.35	0.16	0.24	0.22	0.08
NADPH	0.22	0.03	0.07	0.35	0.19	0.19	0.21	0.19	0.14	0.27	0.33	0.06	0.15	0.56	0.21	0.26	0.16	0.24	0.37	0.50
GP(monomethyl)E	0.21	0.05	0.13	0.35	0.19	0.37	0.21	0.19	0.14	0.00	0.20	0.05	0.13	0.06	0.21	0.17	0.23	0.32	0.37	0.00