
基于TBTOOLS 的水稻抗耐寒性 状BSA分析

G6:

G6A 刘铸乐 2501112487

G6B 高雨昕 2501112484

G6C 耿姗姗 2501112485

G6D 吴永麒 2501110559



1. TBtools的介绍

TBTools



Molecular Plant
Resource Article

TBtools: An Integrative Toolkit Developed for Interactive Analyses of Big Biological Data

Chengjie Chen^{1,2,3,4}, Hao Chen⁵, Yi Zhang^{1,2,3,4}, Hannah R. Thomas⁶, Margaret H. Frank⁶, Yehua He^{2,3,4} and Rui Xia^{1,2,3,4,*}

¹State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources, South China Agricultural University, Guangzhou, China

²Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong

³Key Laboratory of Biology and Germplasm Enhancement of Horticultural Crops in South China, Ministry of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510640, China

⁴College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510640, China

⁵Oilseed Crops Institute, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

⁶Plant Biology Section, School of Integrative Plant Science, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA

*Correspondence: Rui Xia (rxia@scau.edu.cn)

<https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.06.009>

Molecular Plant



Volume 16, Issue 11, 6 November 2023, Pages 1733-1742

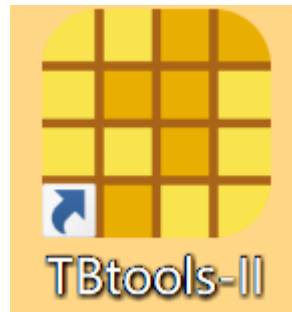
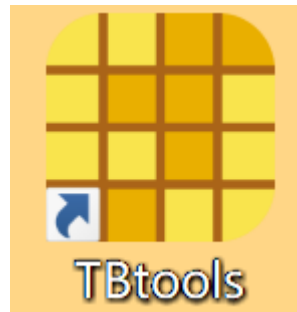
Resource article

TBtools-II: A “one for all, all for one” bioinformatics platform for biological big-data mining

Chengjie Chen^{1,2,3} , Ya Wu¹, Jiawei Li⁴, Xiao Wang⁵, Zaohai Zeng^{1,2,3}, Jing Xu^{1,2,3}, Yuanlong Liu^{1,2,3}, Junting Feng⁶, Hao Chen⁷, Yehua He¹, Rui Xia^{1,2,3}

Show more

Add to Mendeley Share Cite



作者



夏瑞

华南农业大学教授，目前主要利用**生物信息学、基因组学及分子生物学**等手段，围绕**无患子科植物花性别分化机制以及岭南水果花果发育调控机理**等生物学问题开展研究。在Nature Genetics, Molecular Plant等学术刊物发表SCI论文60多篇，累计引用>10,000次，入选2022“**中国高被引学者**”（Elsevier）。

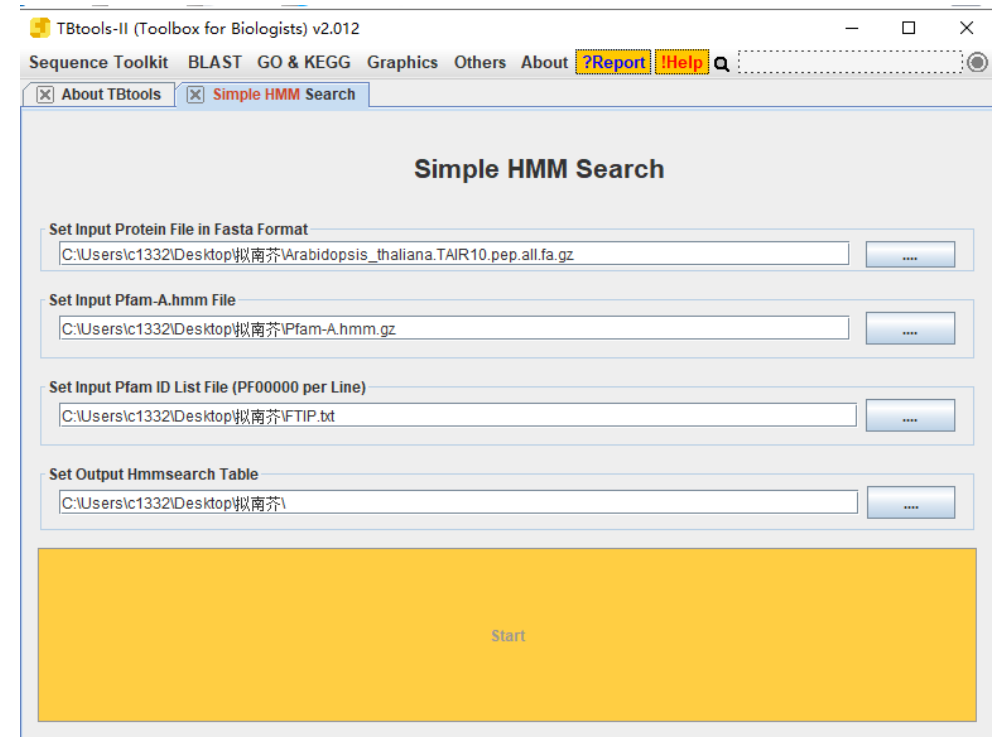
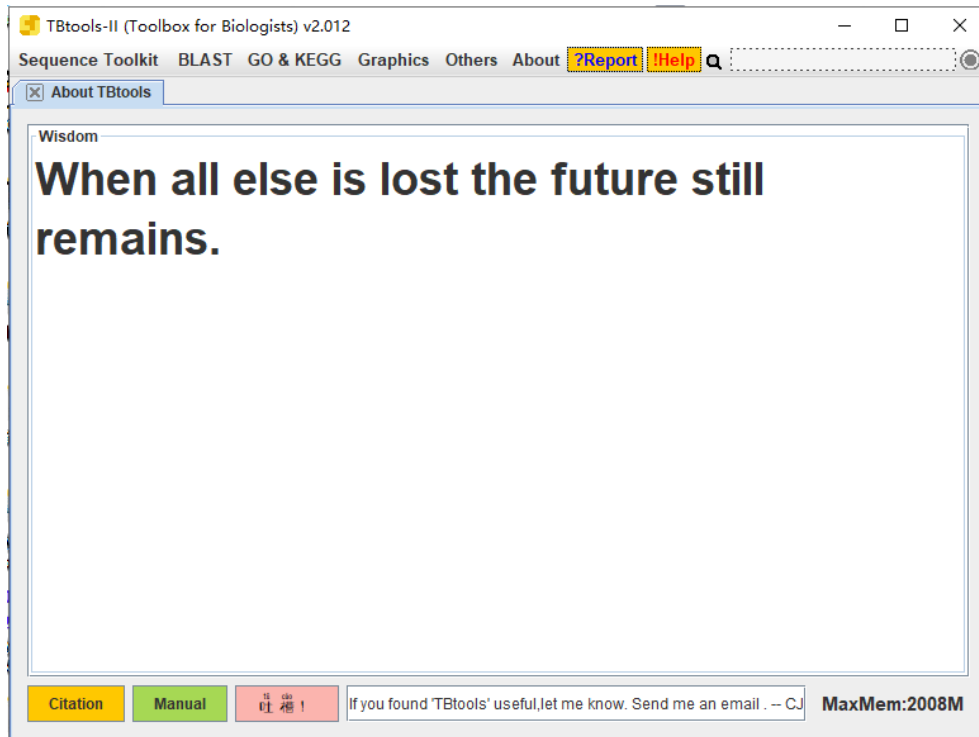
华南农业大学讲师，以**基因组和生物信息学**为主要研究手段，致力于**香蕉枯萎病抗性机理解析**。持续分享课题开展期间产生的新策略/新方法，形成生物软件并对外分发（含**TBtools**和**GSaman**）。在Molecular Plant和iMeta等学术刊物发表论文30余篇，入选2022“**中国高被引学者**”（Elsevier）。



陈程杰

TBtools (a Toolkit for Biologists integrating various biological data-handling tools)

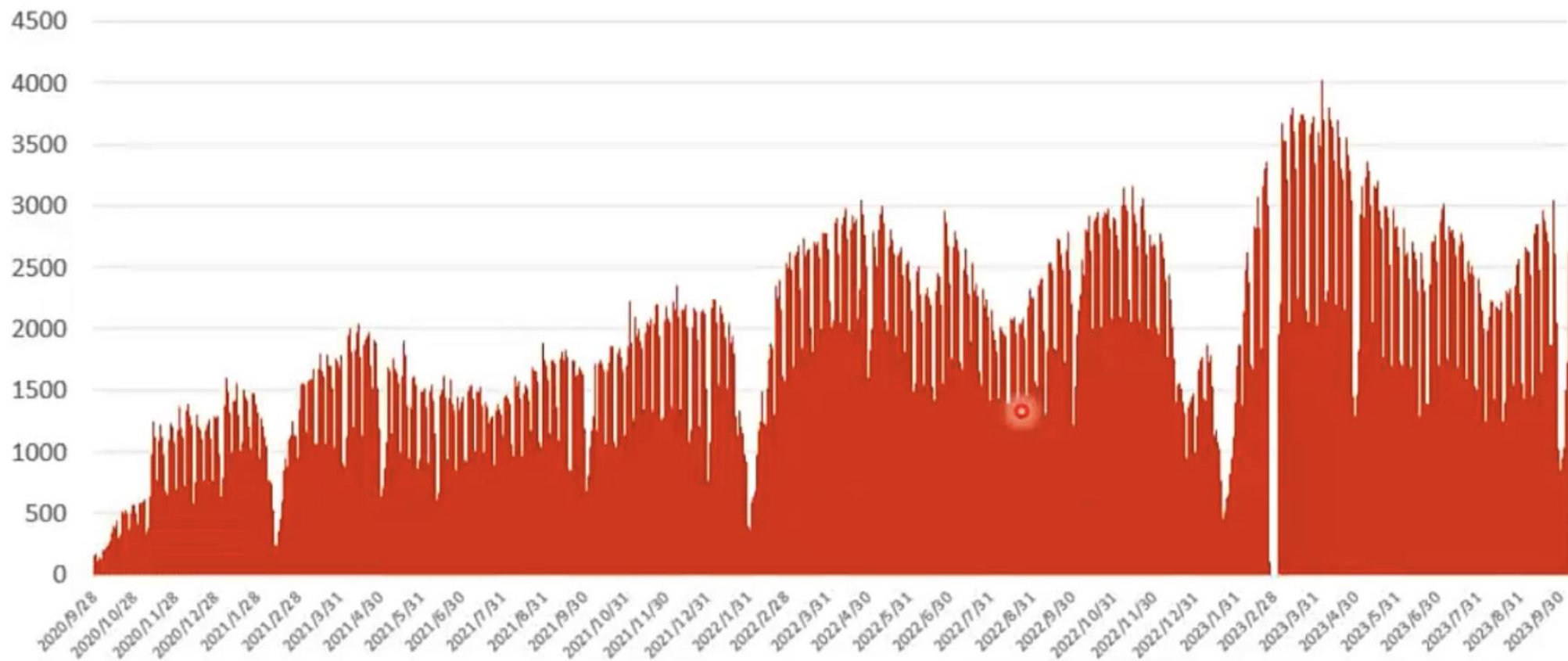
designed a **graphic user interface (GUI)** panel according to the most straightforward **IOS logic**, i.e., **Set Input Data, Set Output Path if Required, and Click Start Button.**



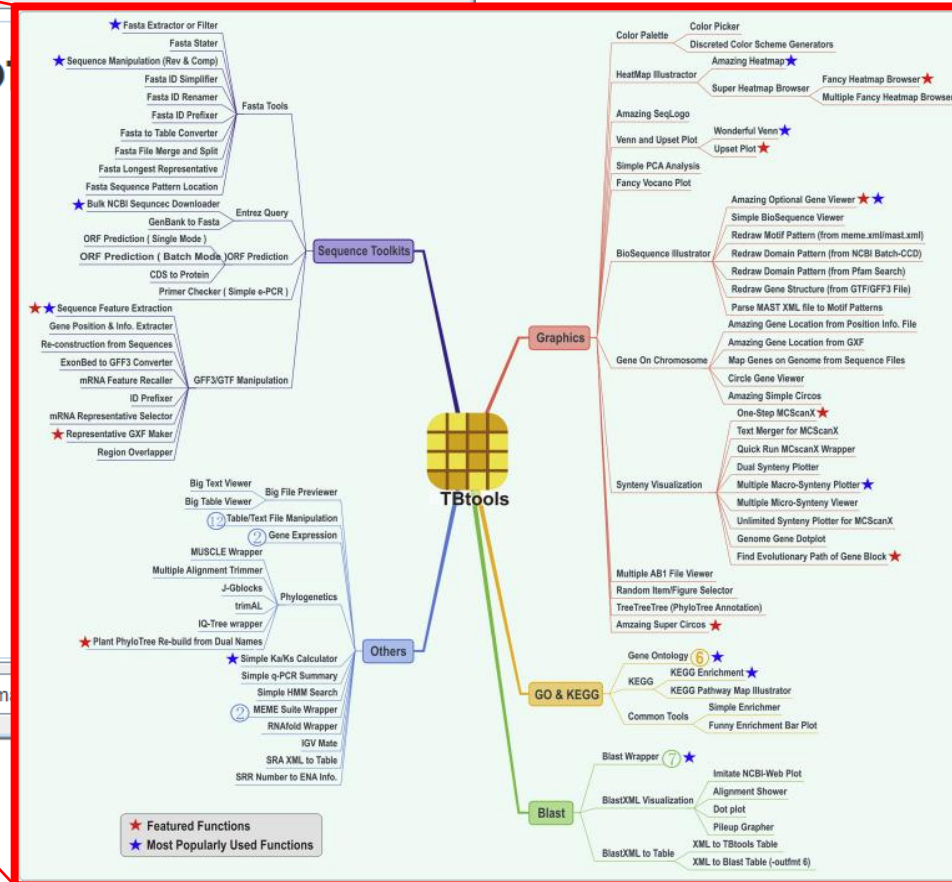
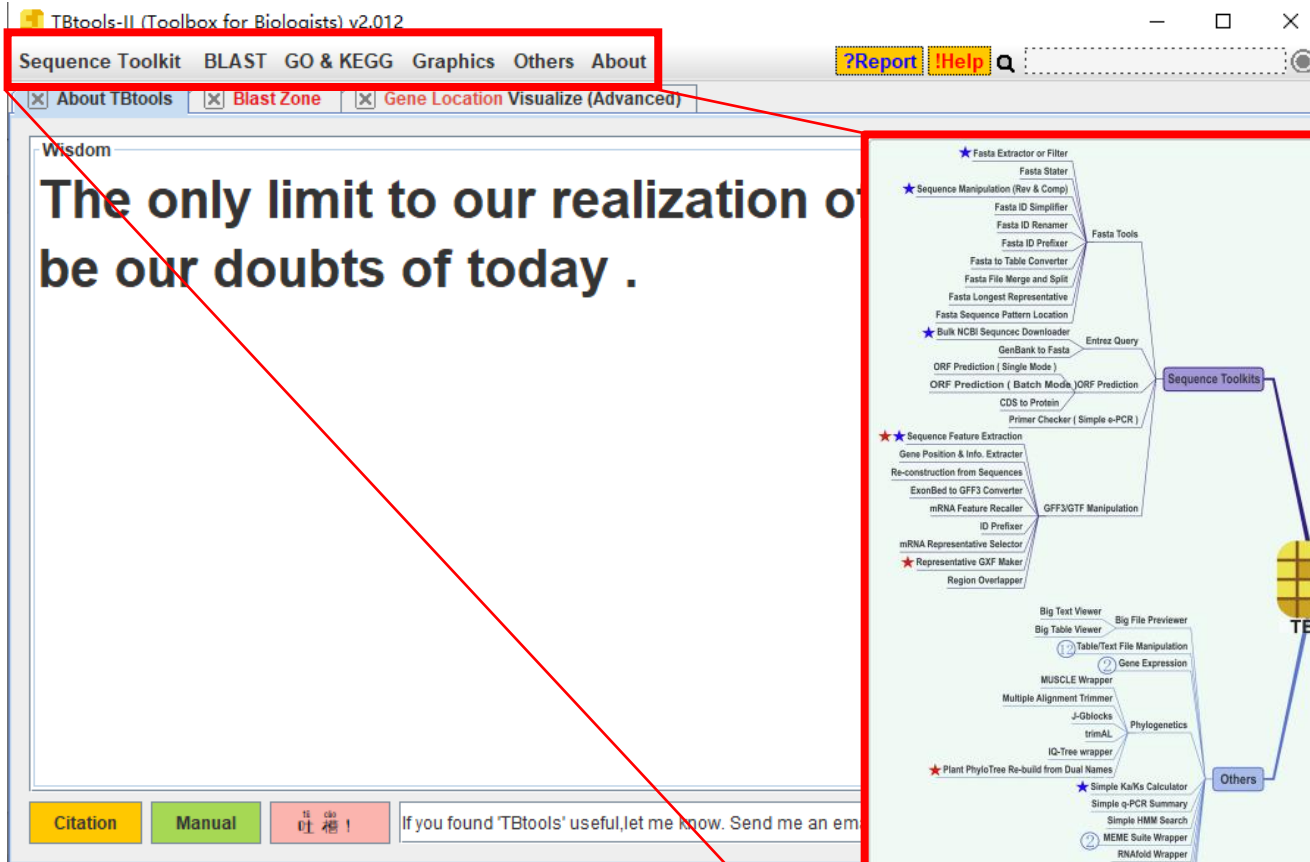
TBtools用户日活跃量

用户超过 20万人

每天 > 3000人使用TBtools



TBtools





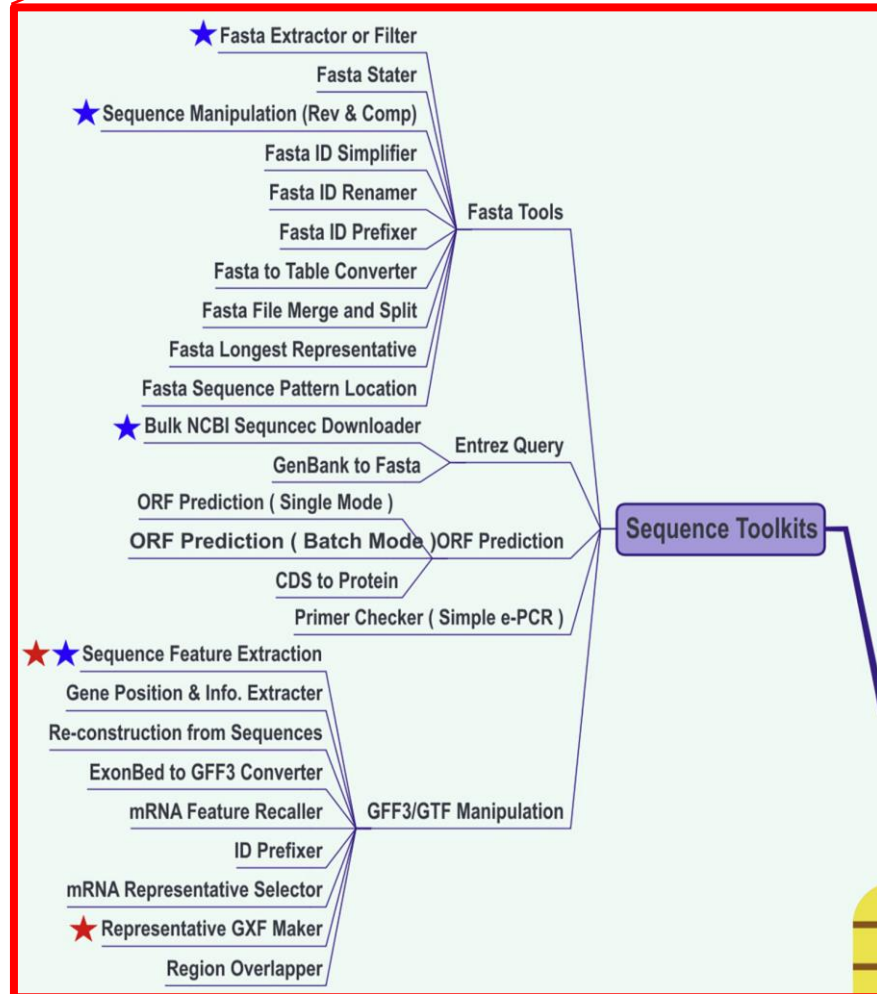
Sequence Toolkit

BLAST

GO & KEGG

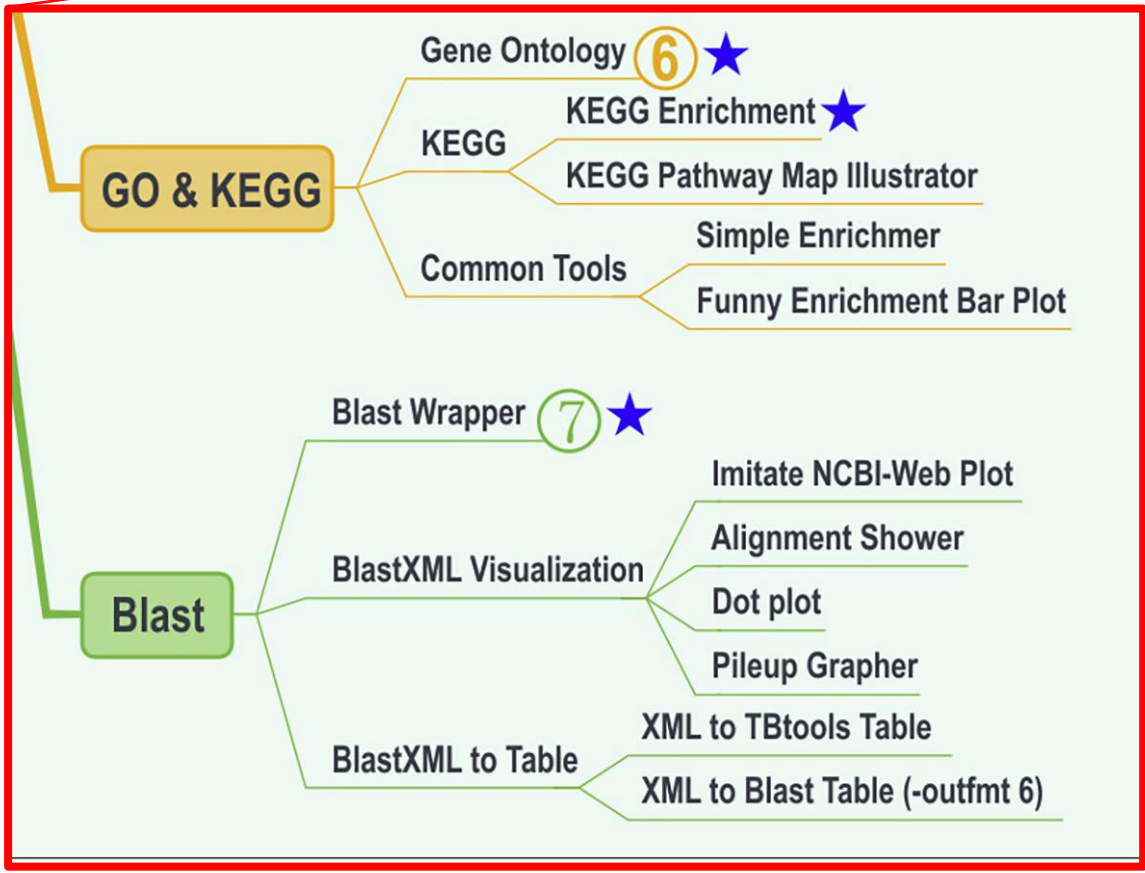
Graphics

Others



- Fasta Extract (Recommended) - 序列提取/截取
- Sequence Manipulate (Rev&Comp) - 序列反向，互补，大小写等
- Fasta ID Simplify - 简化 Fasta 序列 ID
- Merge and Split - 进行Fasta序列文件合并或者分割
- Bulk NCBI Sequence Download (Advanced) - 批量下载
- Primer Check (Simple e-PCR) - 设计 q-PCR 荧光定量引物后，比对查看是否会产生非特异性扩增
- GXF Sequence Extract - 提取转录本序列、CDS序列、启动子序列等特征
- GXF Gene Position & Info Extract - 快速获取每个基因的具体信息，如位置，注释等

Sequence Toolkit **BLAST GO & KEGG** Graphics Others



- Gene Ontology - GO 注释功能，GO水平富集等
- KEGG Enrichment - KEGG 通路富集分析
- KEGG Pathway Map Illustrate - 将感兴趣的基因标记在 KEGG Pathway 通路图
- Simple Enrichmer - 按照自己定义的基因注释进行基因集合功能富集分析
- Funny Enrichment Bar Plot - 可视化富集分析结果
(TBtools 的富集分析结果，无需做参数调整，有预置选项。对于其他软件输出的富集分析结果，那么简单设置下对应列索引数值即可)
- Blast Wrapper - 序列比对



Sequence Toolkit

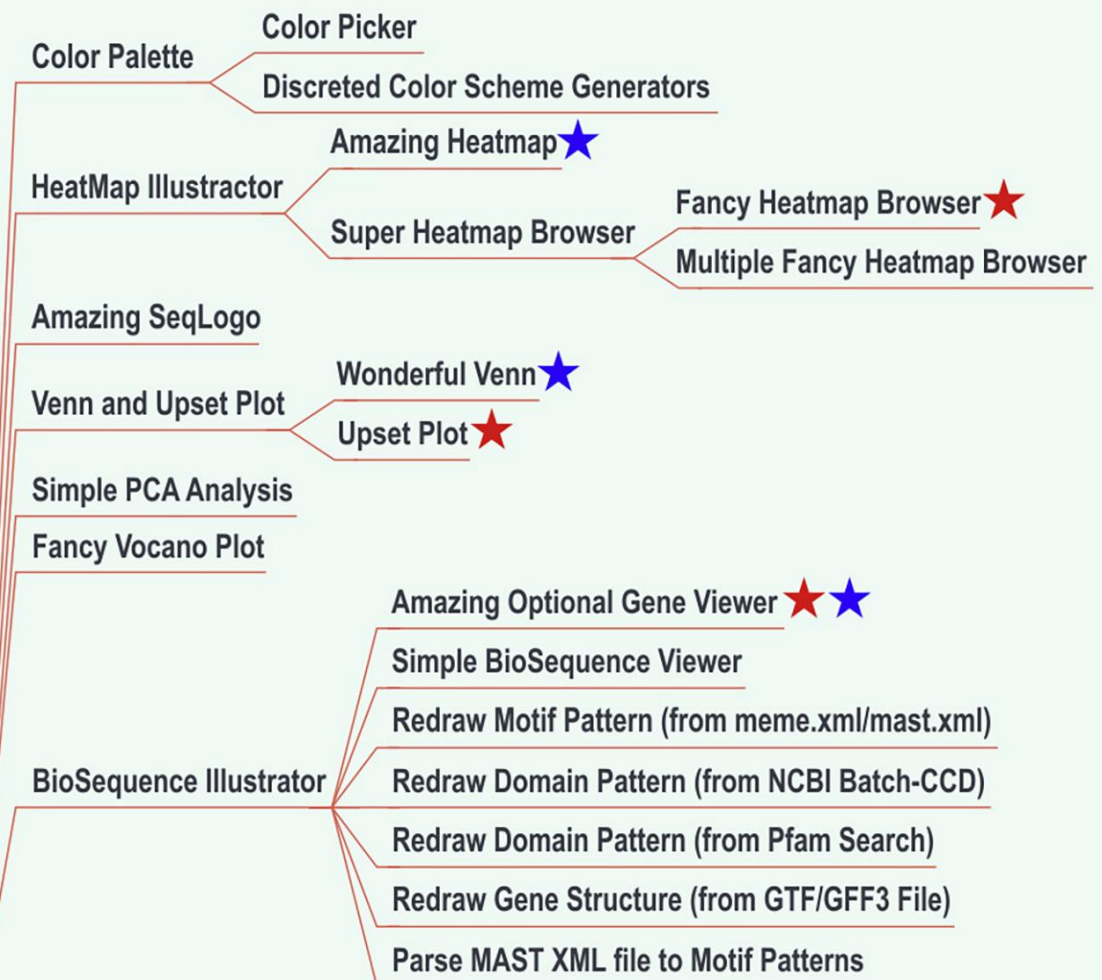
BLAST

GO & KEGG

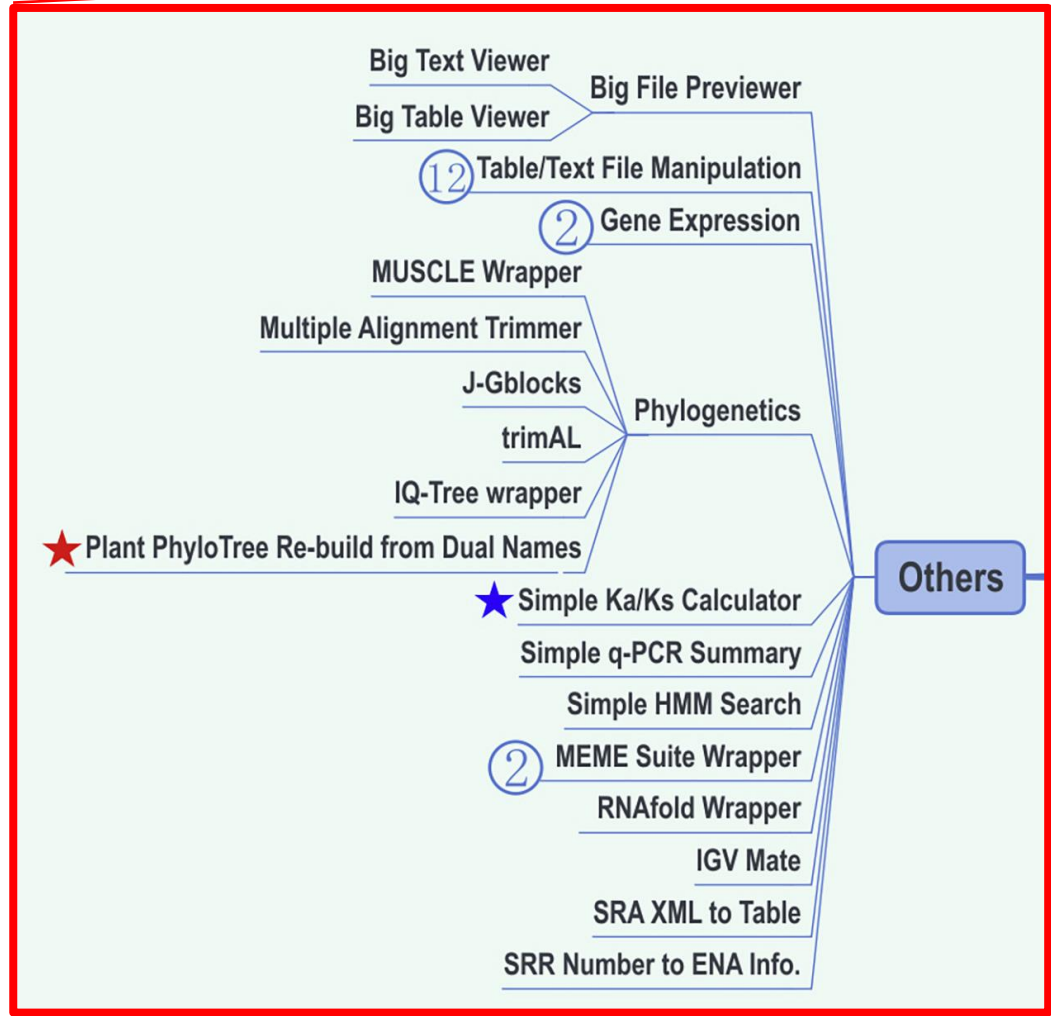
Graphics

Others

自帶配色器/取色器



Sequence Toolkit BLAST GO & KEGG Graphics **Others**



- Big Text/Table Viewer - 大数据文件预查看
- Phylogenetics - 建树相关的过滤、比对等
- Simple Ka/Ks Calculator - 推断选择压力
- Simple HMM Search - 寻找保守结构域 (家族)

插件社区环境

qPCRsum Shiny	Qianghua Zhou
quickQrtPCR	Nongxinshengxin
RNAdiff	Nongxinshengxin
Sanger Sequencing Result Check Advanced	Chengjie Chen
Barplot Shiny	Shao Yang
fastANI	Chuhao Li
Centromer Locate	Fengqi Wu
GO KEGG Enrichment Shiny	Hualiang Ge
Sample Distance	Xizhe Sun
Sort_Sequence_bySxl	Xiaoliang Shan
...	...

总结：TBtools的功能特性

- 贴近生信**下游数据分析**日常
- 界面化，重**交互操作**：TBtools 具有非常简单的界面化接口
- 最简化操作的同时提供**丰富可选参数**：对应几乎所有功能预置了普适参数，用户常常可以直接使用，无需设置参数。甚至很多时候，TBtools 会根据输入文件，自动调整适合参数，直接减少用户操作步骤，和判断时间。
- 可**交互式图稿**：内置交互性的**JIGplot**

官方教程

The screenshot shows the TBtools Cookbook website. The main content area displays a table of contents for the 'TBtools Cookbook' with 158 documents and 103,358 characters. A red box highlights the 'TBtools Cookbook' header and the '一分钟入门并精通TBtools使用' article. To the right, a detailed list of articles is shown, categorized into 'TBtools 实用教程' and 'BLAST'.

TBtools Cookbook
158 文档 103358 字

一分钟入门并精通TBtools使用 06-22 08:27

写在前面

- 为什么写 TBtools 2021-10-22 13:09
- 为什么用 TBtools 2022-11-13 10:36
- TBtools 能干什么? - 用户 100 问! 01-03 08:34
- TBtools 不能干什么? 2021-11-22 10:33
- 快速解决「TBtools」使用问题! 2022-08-24 23:02

TBtools 简介

- TBtools 的功能概览 2022-11-13 10:17

TBtools 实用教程

- 简洁 | 优雅地准备 比较基因组分析 文件 09-29 15:49
- Tomato BSAsq Demo using real data 08-14 15:16
- 可交互的-基因组水平-基因对-点阵图 01-25 19:58
- 「TBtools」提取的 CDS 序列 ID 很复杂, 怎么办? 01-15 22:54
- TBtools, 不仅仅是生信小工具 01-15 22:42
- windows下直接跑MEME suite? 对! 任何人都可以。 01-15 22:42
- TBtools版本更新与下载- 释放近期新增特性 (二) 01-15 22:40
- 如何快速得到 (一堆) 植物的进化关系? 01-15 22:39
- TBtools版本更新与下载-释放近期新增特性 01-15 22:39
- 一张图一次性展示进化树-Motif Pattern-基因结构, 却不能编辑树? 01-15 22:38
- 零基础-绝对完成GO/KEGG pathway富集分析-和-绘图 01-15 22:36
- 10秒钟-完美掌握-热图 (heatmap) 绘制 - 所有人都可以! 01-15 22:37
- 基因集合可视化---如何更优雅、快速、方便而全面? 01-15 22:34
- WonderfulVenn - 操作简便到极致的可交互的韦恩图工具, 支持2~... 01-15 22:30
- 无限个! 物种共线性分析结果可视化 01-15 22:16

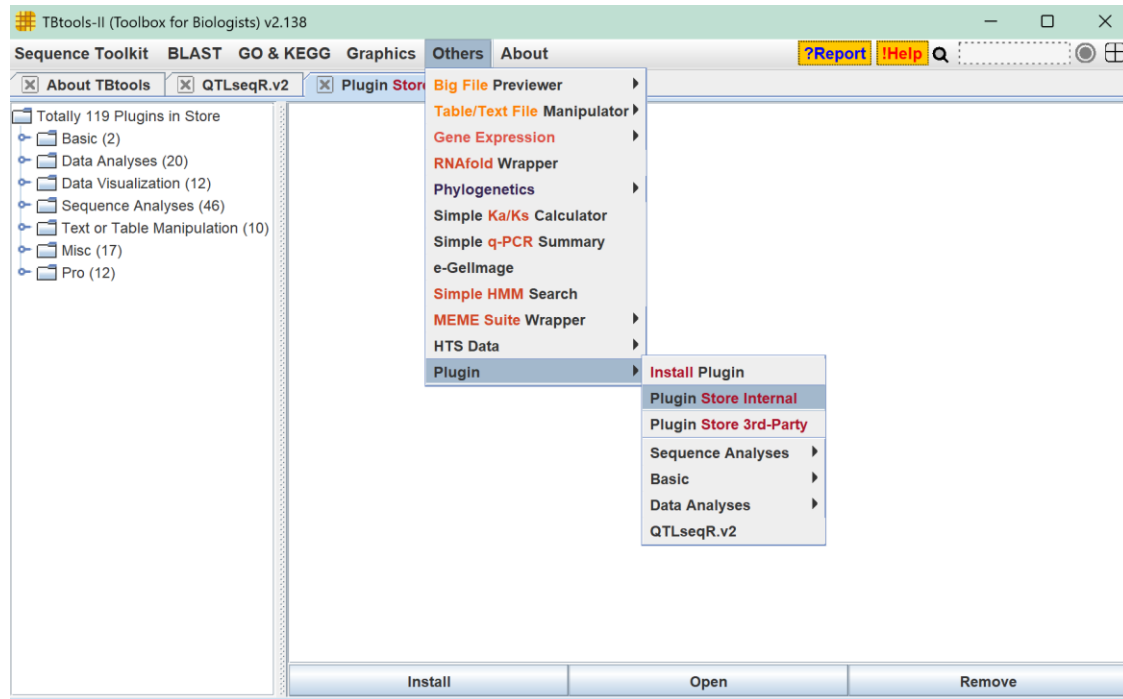
BLAST

- BLAST GUI Wrapper**
 - Remote BLAST (via Web) 2021-10-28 15:56
 - BLAST Zone 2021-12-07 23:53
 - Several Sequences to a Big File [Commonly Used] 2021-10-28 16:32
 - Two Sequence Sets 2021-10-30 13:47
 - Two Sequence Files 2021-10-28 16:52
 - Regions between Two Genomes 2021-10-28 16:52
 - Several Sequences to FastQ 2021-10-28 16:52
 - Reciprocal BLAST 2021-10-28 16:52
- BLASTXML Visualization**
 - Imitate NCBI-Web Plot 2021-11-24 15:53
 - Alignment View 2021-11-24 15:58
 - Dot-Plot 2021-11-24 15:58
 - BLAST XML Pileup Graph 2021-11-24 16:01
 - BLASTXML to Table 2021-11-24 16:11

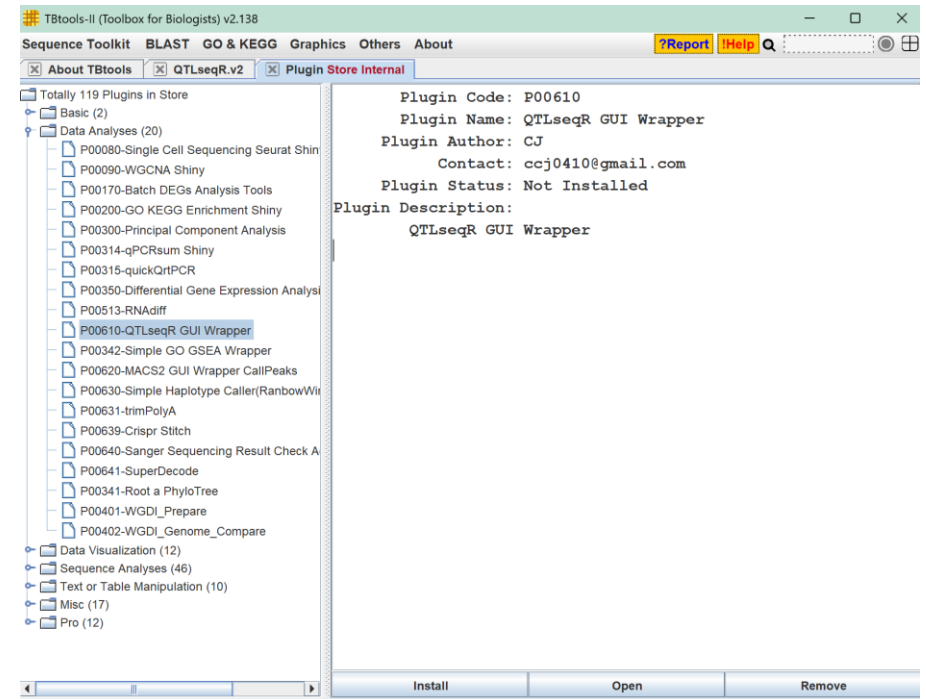
TBtools 下载链接: <https://tbtools.cowtransfer.com/s/0a9cbf41b47b4a>
TBtools 使用指南: <https://www.yuque.com/cjchen/hirv8i>

2. TBtools安装插件QTLseqR

QTLseqR的安装



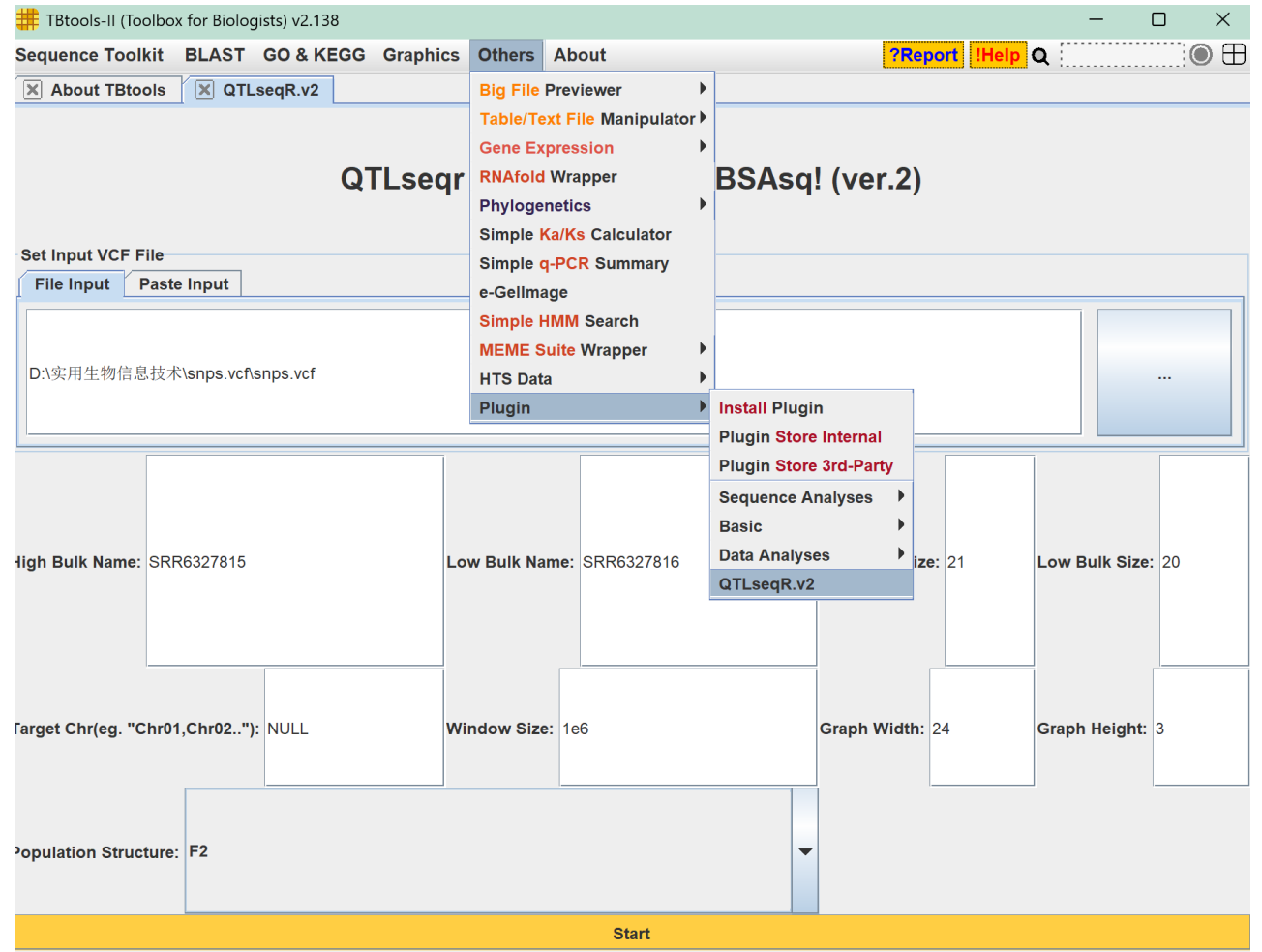
➤ 在Others中找到Plugin-Plugin Store Internal



➤ 在左侧栏的Data Analysis中找到QTLseqR GUI Wrapper，点击install

成功安装

- 根据指示进行安装，成功后即可在Others-Plugin中找到QTLseqR




3. 演示示例

ORIGINAL ARTICLE

Open Access



Identification of a cold-tolerant locus in rice (*Oryza sativa* L.) using bulked segregant analysis with a next-generation sequencing strategy

Jian Sun^{1†}, Luomiao Yang^{1†}, Jingguo Wang¹, Hualong Liu¹, Hongliang Zheng¹, Dongwei Xie², Minghui Zhang³, Mingfang Feng³, Yan Jia¹, Hongwei Zhao¹ and Detang Zou^{1*} 

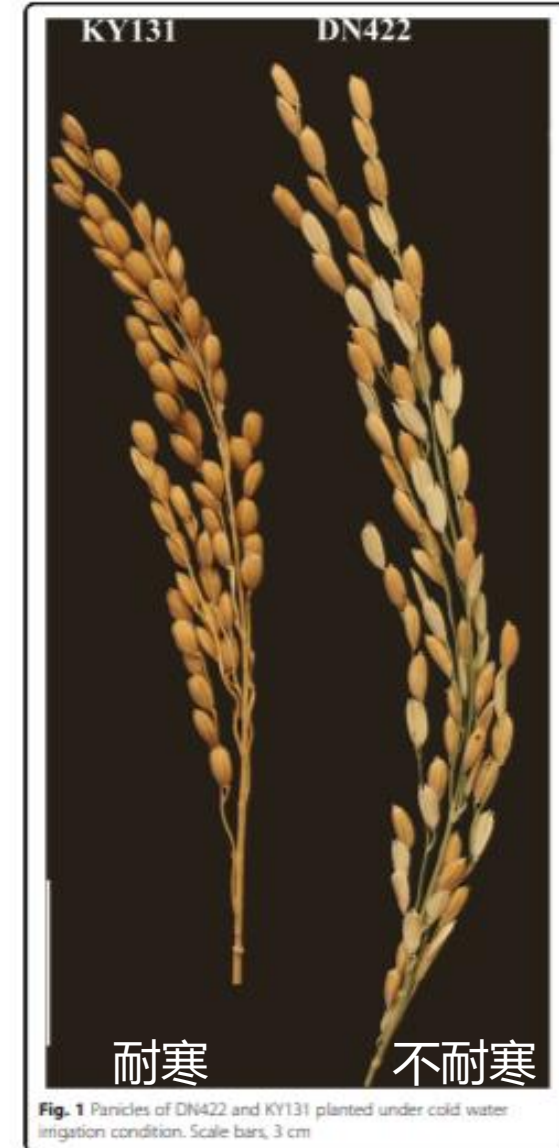
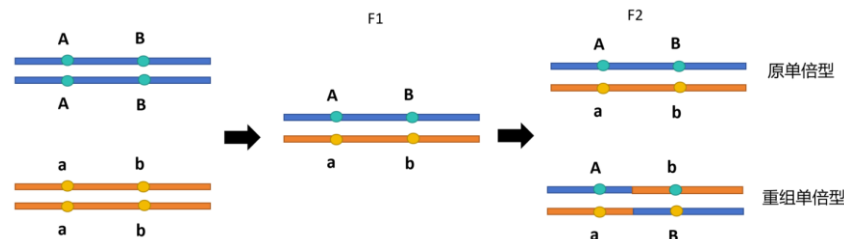
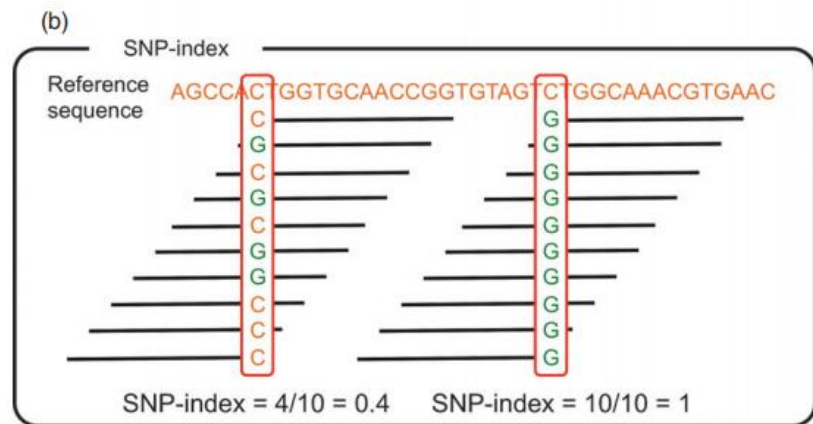
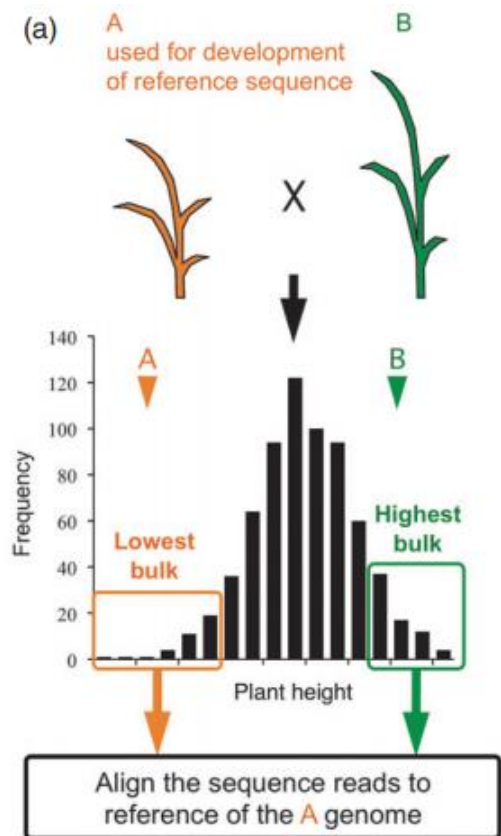


Fig. 1 Panicles of DN422 and KY131 planted under cold water irrigation condition. Scale bars, 3 cm

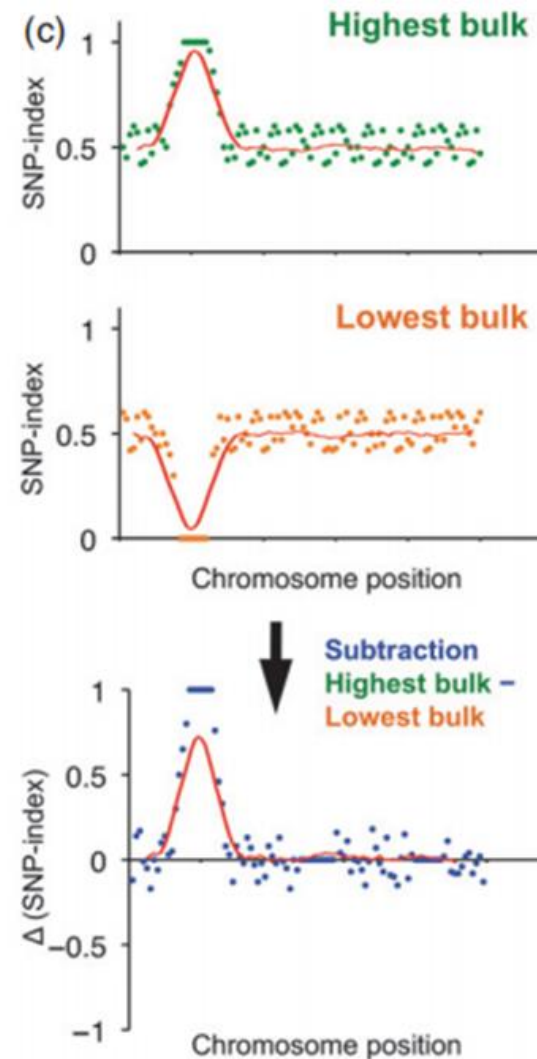
各20个RIL

BSA分析原理



两个遗传标记之间:

1. 如果距离很近, 趋向于连锁
2. 如果距离很远, 趋向于自由组合



极端表型 混池测序

文件的输入

```
Max Row Per Page 50 Max Size Per Page 100000
D=MQ0F,Number=1,Type=Float,Description="Fraction of MQ0 reads (smaller is better)">
<ID=PL,Number=6,Type=Integer,Description="List of Phred-scaled genotype likelihoods">
<ID=DP,Number=1,Type=Integer,Description="Number of high-quality bases">
<ID=AD,Number=8,Type=Integer,Description="Allelic depths">
<ID=GT,Number=1,Type=String,Description="Genotype">
D=ICB,Number=1,Type=Float,Description="Inbreeding Coefficient Binomial test (bigger is better)">
D=HOB,Number=1,Type=Float,Description="Bias in the number of HOMs number (smaller is better)">
D=AC,Number=A,Type=Integer,Description="Allele count in genotypes for each ALT allele, in the same order as listed">
D=AN,Number=1,Type=Integer,Description="Total number of alleles in called genotypes">
D=DP4,Number=4,Type=Integer,Description="Number of high-quality ref-forward , ref-reverse, alt-forward and alt-reverse base

D=MQ,Number=1,Type=Integer,Description="Average mapping quality">
s_callVersion=1.9+htslib-1.9
s_callCommand=call -mv -Ob -o 03-variants/chr01.bcf; Date=Thu Oct 3 23:35:11 2019
<ID=Snpgap,Description="SNP within 3 bp of an indel">
<ID=IndelGap,Description="Indel within 10 bp of an indel">
s_filterVersion=1.9+htslib-1.9
s_filterCommand=filter -g3 -G10 '-e%QUAL<10 || (RPB<0.1 && %QUAL<15) || (AC<2 && %QUAL<15) || MQ < 30 || MQSB <=0.1' merged
e=Fri Oct 4 10:29:25 2019
s_viewVersion=1.9+htslib-1.9
s_viewCommand=view -i 'TYPE="snp" & N_ALT = 1 & STRLEN(ALT) = 1' filter.vcf; Date=Fri Oct 4 10:30:06 2019
OS ID REF ALT QUAL FILTER INFO FORMAT SRR6327815 SRR6327816 SRR6327817 SRR6327818
151 . C A 236 PASS DP=62;VDB=0.489777;SGB=12.2336;RPB=0.890185;MQB=0.957088;BQB=0.994858;MQ0F=0
B=0.21875;AC=3;AN=8;DP4=35,0,21,0;MQ=59
GT:PL:DP:AD 0/0:0,42,216:14:14,0 1/1:222,54,0:18:0,18 0/0:0,30,199
0/1:60,0,178:14:11,3
918 . G T 315 PASS DP=130;VDB=0.839643;SGB=9.94653;RPB=0.800144;MQB=1;MQSB=1;BQB=0.999894;MQ0F=
OB=0.21875;AC=3;AN=8;DP4=37,47,14,21;MQ=60
GT:PL:DP:AD 0/0:0,93,255:31:31,0 1/1:255,90,0:30:0,30 0/0:0,96,255
0/1:106,0,255:26:21,5
7263 . A C 375 PASS DP=137;VDB=0.279963;SGB=12.6506;RPB=0.172502;MQB=1;MQSB=1;BQB=0.707535;MQ0F=
OB=0.21875;AC=3;AN=8;DP4=43,44,22,20;MQ=60
GT:PL:DP:AD 0/0:0,138,255:46:46,0 1/1:255,102,0:34:0,34 0/0:0,60,255
0/1:166,0,255:29:21,8
1546 . T A 527 PASS DP=93;VDB=0.334913;SGB=5.75343;RPB=0.667753;MQB=1;MQSB=1;BQB=0.92703;MQ0F=0;
=0.21875;AC=5;AN=8;DP4=23,10,25,23;MQ=60
GT:PL:DP:AD 1/1:255,75,0:25:0,25 1/1:255,60,0:20:0,20 0/0:0,51,255
0/1:63,0,255:19:16,3
4732 . T C 210 PASS DP=123;VDB=0.865307;SGB=37.8815;RPB=0.956941;MQB=1;MQSB=1;BQB=0.999502;MQ0F=
16667;HOB=0.375;AC=2;AN=8;DP4=34,54,9,20;MQ=60
GT:PL:DP:AD 1/1:255,87,0:29:0,29 0/0:0,108,255:36:36,0 0/0:0,63,255
0/0:0,93,255:31:31,0
3667 . A G 684 PASS DP=141;VDB=0.0843468;SGB=9.61616;RPB=0.916964;MQB=1;MQSB=1;BQB=0.985483;MQ0F=
HOB=0.21875;AC=5;AN=8;DP4=41,16,38,30;MQ=60
GT:PL:DP:AD 1/1:255,78,0:26:0,26 1/1:255,93,0:31:0,31 0/0:0,84,255
0/1:220,0,255:40:29,11
4057 . C T 592 PASS DP=127;VDB=0.468147;SGB=7.49154;RPB=0.94962;MQB=1;MQSB=1;BQB=0.958487;MQ0F=0
B=0.21875;AC=5;AN=8;DP4=16,36,18,39;MQ=60
GT:PL:DP:AD 1/1:255,72,0:24:0,24 1/1:255,78,0:26:0,26 0/0:0,78,255
0/1:128,0,255:33:26,7
5239 . A C 697 PASS DP=123;VDB=0.130316;SGB=21.8991;RPB=0.984549;MQB=1;MQSB=1;BQB=0.992399;MQ0F=
```

TBtools (Toolbox for Biologists) v1.100

Sequence Toolkit BLAST GO & KEGG Graphics Others About ?Report !Help

About TBtools QTLseqr GUI Wrapper for BSAsaq!

QTLseqr GUI Wrapper for BSAsaq!

Set Input VCF file

File Input Paste Input

C:\Users\Administrator\Downloads\snps.vcf

High Bulk Name SRR6327817 Low Bulk Name SRR6327818 High Bulk Size 21 Low Bulk Size 20

Target Chr(eg."Chr01,Chr02..") NULL Window Size 1e6 Graph Width 12 Graph Height 3

PopStruc F2

Set a Working Directory







C:\Users\Administrator\Downloads\

Start

<https://github.com/CJ-Chen/TBtools/releases>

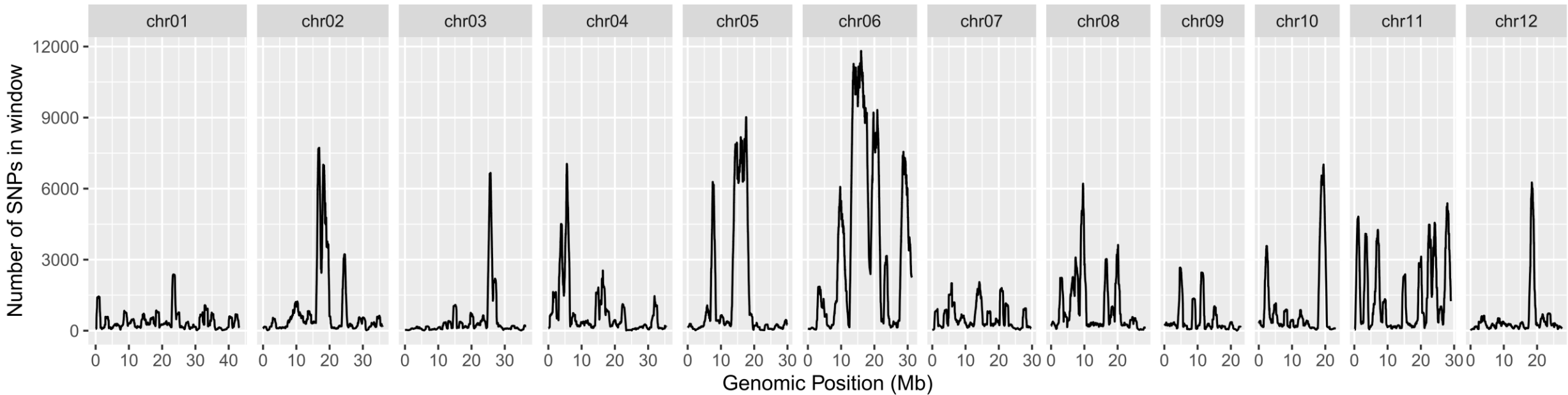
➤ 以SRR6327815 VS SRR6327816根据给出的预览窗口将对应的bulk name填充到相应位置，点击start

输入结果

 deltaSNP	2025/12/19 10:53	WPS PDF 文档	464 KB
 Gprime	2025/12/19 10:53	WPS PDF 文档	321 KB
 negLog10Pval	2025/12/19 10:53	WPS PDF 文档	329 KB
 nSNPs	2025/12/19 10:53	WPS PDF 文档	311 KB
 TBtools_QTLseqR_BSA_QTL	2025/12/19 10:53	XLS 工作表	1 KB
 TBtools_QTLseqR_SNP.table	2025/12/19 10:52	TABLE 文件	46,863 KB

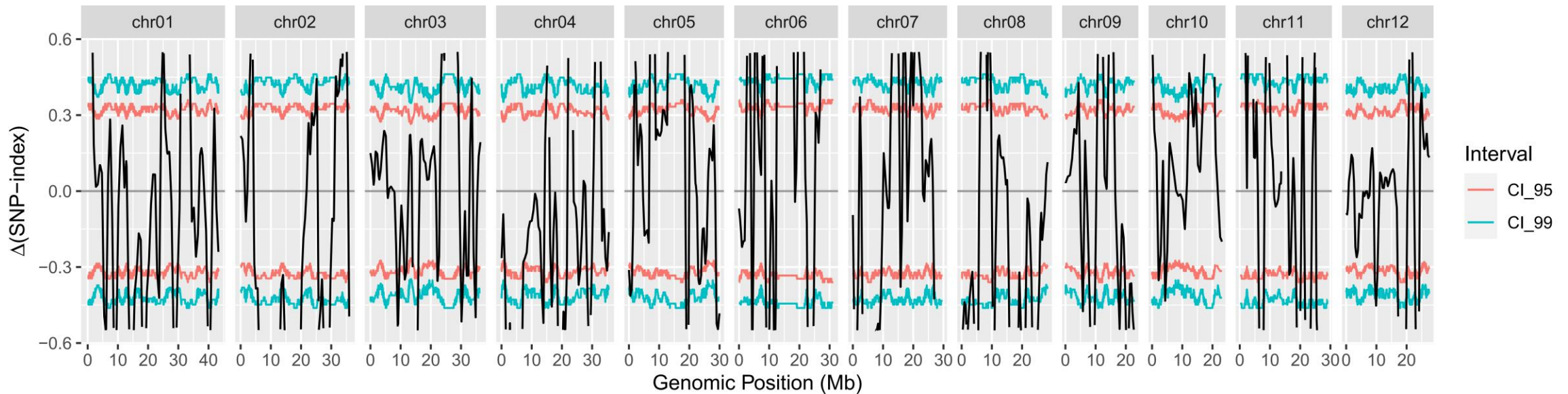
➤ 等待几分钟后，即出现上图所示结果

结果-nSNPs



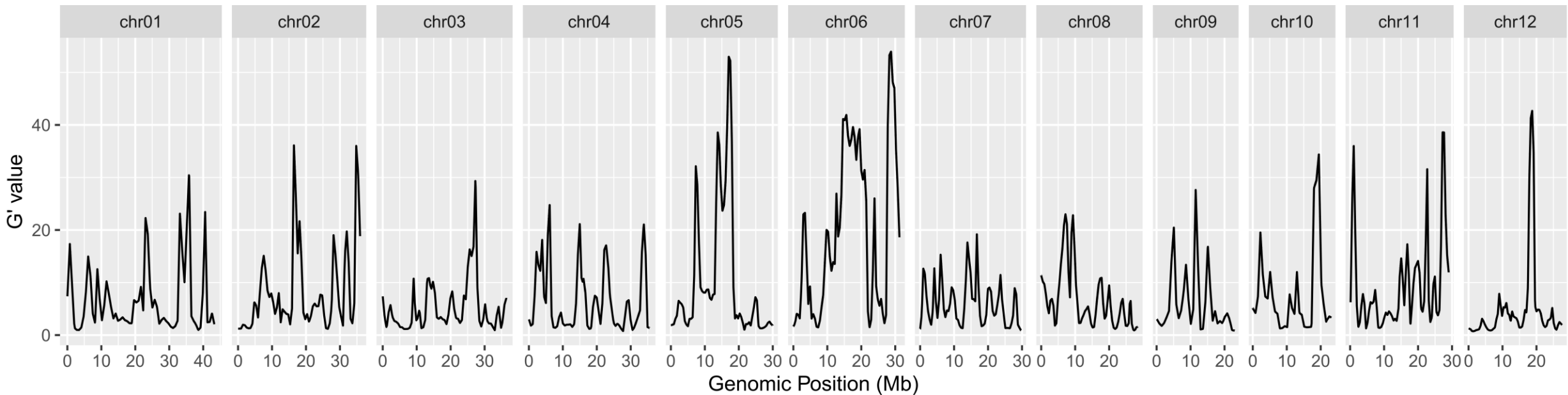
- 通过观察各条染色体的峰值，可以发现 SNP 的分布并不均匀：
- 高密度区域（chr06）：chr06 在中间位置出现了全基因组最高的峰值，SNP 数量接近 12,000 个/窗口。
- 次高密度区域：chr02、chr05、chr10 和 chr11 也显示出较高的 SNP 密度峰值（约 6,000 - 9,000 个）。这些区域同样对应了之前图中出现的显著或次显著信号点。
- 低密度区域：如 chr01 和 chr08，其 SNP 分布相对平缓且数值较低，说明这些区域的遗传差异较小，或者序列重复度较高导致有效标记筛选较少。

结果-deltaSNP



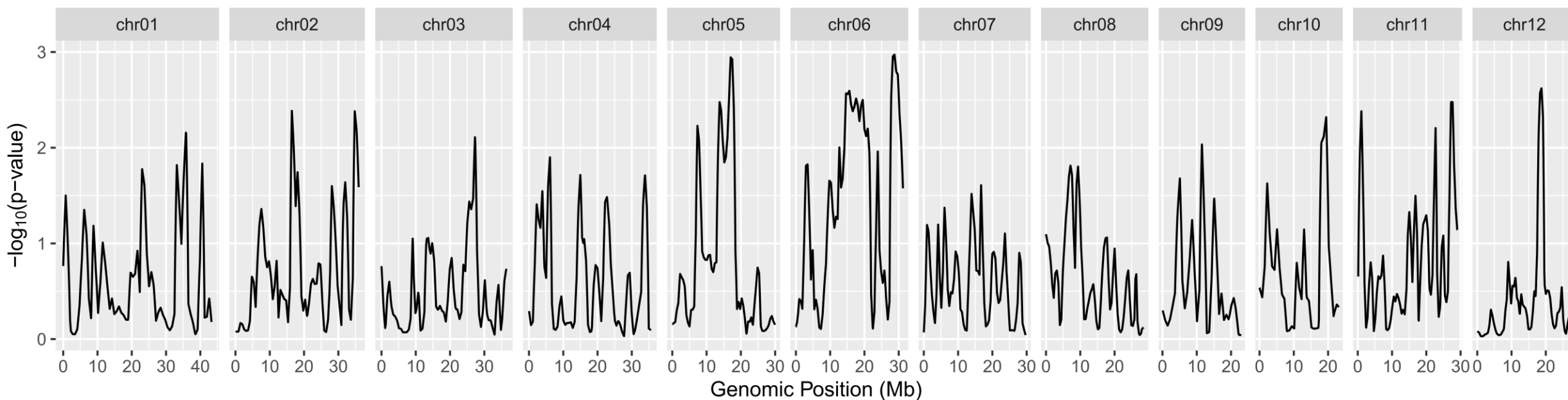
- chr01, chr02, chr06, chr11: 这些染色体上出现了非常明显的黑色尖峰，且多次突破了**99%的置信区间**（青色线）。
- chr03, chr05, chr07, chr09, chr10, chr12: 也有部分区域达到了显著水平。
- chr06 和 chr11 上的波动非常剧烈且密集，表明这些染色体上可能存在对性状影响极大的候选基因。
- chr08 的波动相对较小，大部分处于置信区间内，说明该染色体上可能没有主要的相关基因

结果-Gprime



- chr06（最显著信号）：在 chr06 上出现了一个极高且陡峭的峰值，其 G' 值远高于其他区域，说明 chr06 上存在一个**主效 QTL**。
- chr11（强关联区间）：chr11 显示了多个连续的高峰，关联强度也非常大。
- chr01, chr02, chr12：也存在明显的 G' 峰值，表明对性状有一定程度的贡献。
- chr08：其 G' 值保持在极低水平（接近 0），**基本排除**了该染色体存在主效基因的可能性。

结果-negLog10Pval



- chr06 (最显著): 在约 25-30 Mb 附近出现了一个极高的峰值，接近 3.0。这说明该区域存在一个统计学意义极显著的主效位点。
- chr05: 也出现了一个接近 3.0 的极高峰值，位于约 15-20 Mb 处。
- chr11: 显示出多个显著的尖峰，最高值超过 2.5。
- chr12: 在末端区域有一个明显的尖峰，数值约为 2.6。chr02: 在约 30 Mb 附近有一个显著峰值，超过了 2.0

结果总结

染色体	综合表现	结论
chr06	四项指标均显示最强信号，且SNP密度极高。	首选核心QTL区域，极有可能包含控制性状的主效基因。
chr05	p值显著性极高，且在Gprime图中也有明显表现。	次选核心区域，具有很强的关联性。
chr11	信号波动剧烈且显著，对应区域 SNP 丰富。	重要候选区域，可能存在多个连锁位点。
chr12/chr02	存在显著的统计学峰值。	次要位点，对性状可能有一定贡献。

TBTools介绍

Molecular Plant



Volume 16, Issue 11, 6 November 2023, Pages 1733-1742

Resource article

TBtools-II: A “one for all, all for one” bioinformatics platform for biological big- data mining

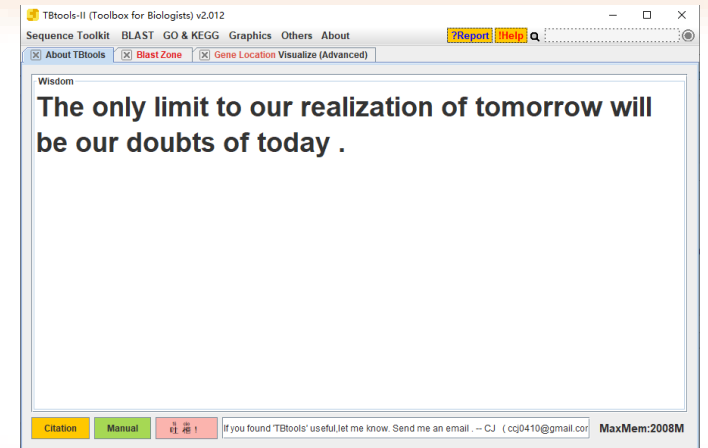
Chengjie Chen^{1,2,3}, Ya Wu¹, Jiawei Li⁴, Xiao Wang⁵, Zaohai Zeng^{1,2,3}, Jing Xu^{1,2,3}, Yuanlong Liu^{1,2,3}, Junting Feng⁶, Hao Chen⁷, Yehua He¹, Rui Xia^{1,2,3}

Show more

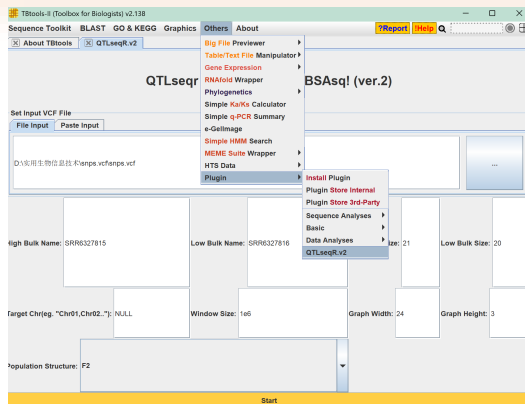
+ Add to Mendeley Share Cite



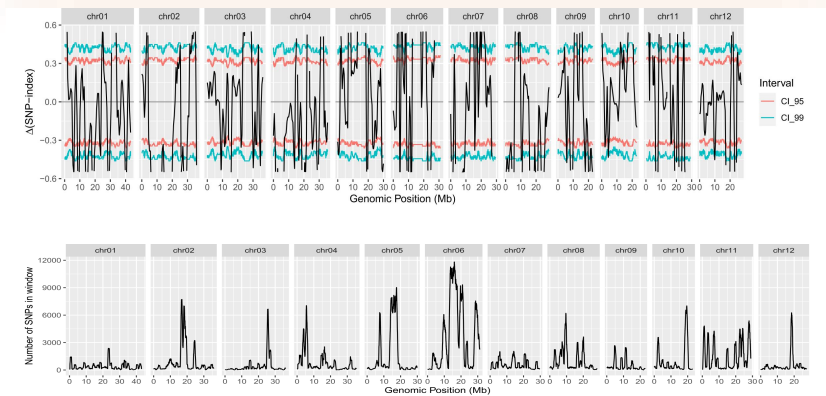
TBTools工具介绍



QTLseqR插件安装



水稻抗寒性状BSA分析



THANKS



高雨昕：BSA分析的案例实操与PPT制作

耿姗姗：BSA分析的案例实操与PPT制作

刘铸乐：汇报、TBTools及案例的前期调研

吴永麒：TBTools的介绍与PPT制作



研究领域：分子 (Molecular)、植物 (Plant)

