

# 竹类植物开花研究进展

林俊<sup>1</sup>, 李利<sup>2</sup>, 周建梅<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>内江市东兴区椑木镇农业服务中心, 四川 内江

<sup>2</sup>内江市东兴区永兴镇农业服务中心, 四川 内江

<sup>3</sup>内江市东兴区自然资源和规划局, 四川 内江

Email: 814894547@qq.com, \*454694817@qq.com

收稿日期: 2021年3月5日; 录用日期: 2021年4月2日; 发布日期: 2021年4月15日

---

## 摘要

本文综述了关于竹类植物开花的历史及其开花学说, 以及开花的发育解剖、分子机制等研究, 旨在为竹类植物的有性生殖研究提供理论参考。

## 关键词

竹类植物, 开花, 研究进展

---

# The Flowering Research Progress in Bamboo

Jun Lin<sup>1</sup>, Li Li<sup>2</sup>, Jianmei Zhou<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>The Agricultural Service Center for Beimu Town of Dongxing District in Neijiang, Neijiang Sichuan

<sup>2</sup>The Agricultural Service Center for Yongxing Town of Dongxing District in Neijiang, Neijiang Sichuan

<sup>3</sup>Dongxing District Natural Resources and Planning Administration of Neijiang, Neijiang Sichuan

Email: 814894547@qq.com, \*454694817@qq.com

Received: Mar. 5<sup>th</sup>, 2021; accepted: Apr. 2<sup>nd</sup>, 2021; published: Apr. 15<sup>th</sup>, 2021

---

## Abstract

This paper have reviewed the flowering history and theories, as well as the developmental anatomy and molecular mechanism of flowering in bamboo, in order to provide theoretical references for sexual reproduction research in bamboo.

---

\*通讯作者。

## Keywords

### Bamboo, Flowering, Research Progress

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

竹子属于禾本科(*Gramineae/Poaceae*)竹亚科(*Bambusoideae*)植物,在禾本科植物中属于最大的类群。根据英文修订版植物志记载,全世界约有 88 属 1400 余种,我国有 34 属 534 种,主要分布在 19 个省(自治区、直辖市) [1],竹类植物的生殖生物学特性较为特殊,它的开花周期却很长、花后多不育,生殖发育研究一直很薄弱。本文综述了竹类植物开花研究进展,为竹类植物有性生殖研究提供理论参考。

## 2. 竹类植物开花研究

### 2.1. 开花历史

竹子的生物学特性比较特殊,它们既能依靠竹鞭、竹笋等营养器官进行无性繁殖,又能开花、结实进行有性生殖。但是,对于大多数竹类植物而言,开花就意味着死亡,这将会影响竹林的生态环境,也会使人们的传统经营习惯受到冲击。因此,关于竹类植物为什么会开花,这个问题一直困惑着人们。对于自然界中的植物而言,当它们发育到一定的阶段时,就会借助繁殖来繁衍后代,绝大多数植物是通过开花结实的有性生殖的方式来完成的。竹类植物也不例外,它们的开花结实也是繁殖后代必不可少的重要方式,是不可避免的。

关于竹子开花的历史,早在 2200 年前,我国先秦重要古籍《山海经》有“竹生花,其年将枯”的记录[2],是国内关于竹类植物开花历史最早的记载。之后的文献,像《竹谱》、《晋书》、《本草纲目》等书籍,也都记载了关于竹子开花的现象[3] [4]。国外的学者们, Munro [5]、Gamble [6]、Brandis [7]等学者,报道了马来西亚,印度,泰国和其他地方的竹子开花现象。自近代以来,比较引人注目的大范围的竹子开花现象经常发生,例如:1907 年,在中国、日本、英国等地,发现了毛金竹(*Phyllostachys nigra*)同时开花的现象;1959 年,桂竹(五月季竹) (*Phyllostachys bambusoides*)先后在中国、朝鲜、日本及美国等地大面积开花,直到 20 世纪 80 年代,仍有零星开花的现象发生。在四川的卧龙地区及岷山山系一带,在 1974~1984 年间,当地人民先后发现冷箭竹(*Fargesia fangiana*)、华西箭竹(*F. nitida*)、缺苞箭竹(*F. denudate*)等竹种相继大面积开花死亡,因对大熊猫等珍贵动物的生存造成了严重威胁而备受关注。另外,近年来又有箬竹(*Chimonobambusa tumidinoda*) [8]、绿竹(*B. oldhamii*) [9]、水竹(*P. heteroclada*)、慈竹(*Neosinocalamus affinis*) [10]、月月竹(*C. sichuanensis*)、鹅毛竹(*Shibataea chinensis*)、孝顺竹(*Bambusa multiplex*) [11]等近百余种竹种有开花的相关报道。

### 2.2. 开花假说

竹类植物开花结实属于正常的生理现象,然而,这也是竹类植物成熟衰老的先兆。竹子属多年生一次性开花植物,它强大的地下茎系统(竹鞭)相当于竹株的“主茎”,地上的竹秆部分则相当于“主茎”上的分枝。当地下茎系统成熟时,整个主茎上的竹株都有可能开花。因此,尽管有一些竹株分布在不同的

地方,但是,如果它们最开始的起源相同,后天的生长发育程度又基本一致,那么它们达到成熟期的时间也会也大致相近,这些竹株同时成片开花的概率就会很大;相反,那些即使生长在同一片竹林的竹株,如果竹种的起源不同,竹株的发育成熟时期,在时间上会出现先后不齐的现象,这时,由于竹子成熟在时间上的不同,就会发生竹子零星开花的现象。根据国内外的记录,竹种不同,发育成熟的时期也会不同,那么开花的时间也会有所不同。例如,有些竹种会每年开花,有的却是零星开花,有的要经过数年或者十几年才会开花,更有甚者开花周期很长,要间隔数十年之久[4]。关于竹子开花的原因,通过对开花历史资料的分析、观察开花现象及调查开花竹林等手段,目前已经形成了以周期学说、营养学说、环境诱因学说、病理学说、个体变异及突变学说、自由基理论等为主的竹子开花学说。

### 2.2.1. 周期学说

竹子在开花时间上具有一定的间隔期,这是竹子开花周期学说的主要观点,这种观点认为,竹子开花间隔周期的长短与它们自身的内部发育规律有关。国内较早的文献《山海经》中,对竹子开花现象就有“竹子六十年易根,易根必生花”的详细记载,这是竹子开花周期学说的开端。

竹子的同步开花现象是竹子周期说最有力的证据。Watanabe et al. [12]曾在 1979 年,对在日本京都大学标本园中和神奈川县的横滨市的毛竹开花时间开展了相关研究,研究发现,当年同时开花的毛竹林,原来都是由 1912 年开花结实后的种子发育而来的,从 1912 年到 1979 年二者的开花时间相隔了 67 年之久;Nagao et al. [13]等也研究毛竹整个生命周期,发现毛竹的开花周期大概是在 60 年左右。

国内外长期研究竹子开花的学者们认为,竹子开花时有着很同步的生物钟的,这会使有着相同起源的竹子会在同一时间段内同步开花,甚至是同步死亡,即使它们生长在世界的不同角落,这样的开花现象也会同时发生。曾经有过类似的报道,在英国花园里的分别来自印度和中国的竹子,与它们在亚洲的起源相同的竹子同时开花,并且同时死亡。

周期学说认为竹子的开花现象是具有周期性的,而且这个开花间隔周期也不是一成不变的,间隔周期的长短还与竹子本身内部的发育成熟度有着密切的关系,另外,外界环境如干旱、降雨以及一些外界人为因素都会影响竹子的开花周期。目前,国内外对于竹类植物的内部生长发育规律及开花规律的研究,仍然需要长期的观察,以及更全面的系统的研究。

### 2.2.2. 营养学说

竹子开花的营养说认为,竹林的经营不善,营养不足等都可能会导致竹类植物开花结实。国内外较早的文献资料中,《农学杂疏》及《授时通考》中关于竹子开花的原因的记载是:“竹园久之,其根多板结”,“或兆水信,或伤水涝”。《日本竹谱》中关于竹子开花的记录是:“根茎交错,营养缺乏,导致开花”。

日本学者掘正太郎曾对开花的竹子进行了分析,他发现在开花竹子的茎秆和地下茎的竹液中,糖分含量明显较高。因此,他认为可能是由于空气、土壤干燥,阳光直射的原因,导致养分缺乏,引起竹子开花。后来一些学者认为,外界条件会改变竹子内部的营养物质碳和氮的比例,用碳氮比来解释植物的开花现象。当碳氮比的值较大时,繁殖生长占优势,竹子开花可能性大,相反,如果比值较小,则以营养生殖为主,竹子就不会开花。上田弘一郎[14]测定了开花毛竹的竹秆中的碳氮比(C/N)含量,测定结果表明,毛竹开花竹秆碳氮比(C/N)为 296.2,未开花是 140.5,开花竹秆中的碳氮比要明显高于未开花竹秆。吴贯明等[15]、Uedek [16]和 Janzen [17]对糖氮比与竹子开花的关系进行了研究,表明较高的 C/N 比可以促进竹子开花。王小红等[18]通过测定水竹开花后地下茎中的碳氮代谢,发现地下茎中的碳氮代谢状态与水竹开花进程具有一定的联系。

随着竹子开花行为的进行,竹子的生长就会变得更加繁荣,代谢活动会增加,养分向生殖器官转移,

营养物质的消耗将增加。但是，它对营养元素的吸收能力却会降低，生长将会受到抑制，生长势会减弱，从而缺乏营养，导致竹子开花后大量死亡。

### 2.2.3. 环境诱因学说

环境诱因学说认为，竹子开花主要是由外部恶劣的环境影响的结果。环境诱因学说以 BrandiS 为代表，他认为“干燥的天气和过度的砍伐森林，足以引起开花”，即竹子到了性成熟阶段，不一定开花结实，干旱、降雨等外界环境因素对生理过程的影响，以及周围的环境变化都会引起竹子开花[19]。

美国学者 Campbell [20]曾分析了中国喜马拉雅山的开花竹子的标本、记录及文献资料，他认为，大面积的竹子开花现象，往往是发生在干旱之后。印度的相关文献也有所记载，例如，1812年2月，茨竹在大干旱的气象条件下开花；1899年，印度的雨季无雨，第二年又发生大干旱，北部的竹林突然开花。1935年，四川旱灾严重的情况下，境内南川县的金佛山方竹有开花现象；1953年，浙江西部发生旱灾，第二年浙江省的西天目山的毛竹林大面积开花。因此，根据这些竹子开花现象的发生，很多研究者猜测，竹子开花的诱因是干旱的环境，即大多数人所认为的气候学说。

另外，许多学者认为“周期学说”、“营养学说”及“环境诱因学说”等开花原因假说，远不能解释竹子开花的真正原因，后来又出现了“病理学说”、“个体变异及突变学说”及“自由基理论”“地震学说”等学说。竹子虽然主要依靠无性生殖来繁衍后代，但它同时也是种子植物，开花结实是竹子个体发育成熟的一种必然现象。竹子自身的内部生理成熟是竹子开花结实的内因(周期学说)；影响竹子开花的外因则是环境条件(营养学说、气候学说)，可以促进或延缓竹子开花。总而言之，竹子开花是由内部生理变化和外部环境共同作用的结果，当竹子处于不同的生长、发育时期，内因和外因所起的作用也会不同。

## 2.3. 开花的发育解剖学研究

由于竹类植物有着较长的开花周期，开花现象也不常见。因此，由于实验材料的获得存在一定的难度，对于竹类植物有性生殖方面的研究相对较少，国内外学者主要采用解剖学的手段，对其有性生殖发育过程进行了研究。

随着科学技术的发展，以及一些先进仪器的使用，国内关于竹类植物有性生殖的研究也越来越多。竹子有性生殖的最早的报道，是乔士义等[21]对毛竹胚胎学的观察，他揭示了毛竹的胚胎学特征，为其它竹类植物的胚胎学研究提供了一定的理论基础，章日英等[22]后来又报道了美国加利福尼亚州莱克县的开花毛竹花器官的形状和大小。近年，孙立方等[23]在前人研究的基础上，对毛竹的生物学特性、花器官形态及结构等做了详细补充。竹子虽然很少开花，但是，开花的竹子也不一定都能结种子。学者们就竹类植物的结实率低下展开了研究，认为花器官的发育至关重要。张文燕等[24]对12种竹子的花粉活力、花粉形态和自然条件下的授粉情况进行了研究，认为竹类植物结实率较低的主要原因是雄性不育和花粉败育。经过对龙头竹(*Bambusa vulgaris*) [25]、巨龙竹(*Dendrocalamus sinicus*) [26]，月月竹(*Menstruocalamus sichuanensis*)、异叶苦竹(*Arundinaria simoniif. albostriatus*)、鹅毛竹(*Shibataea chinensis*) [27]，雷竹(*Ph. praecox*) [28] [29]、麻竹(*D. latiflorus*) [30]等竹种的花器官的解剖研究，介绍了竹类植物的有性生殖的发育过程，探讨了竹子结实率低的原因，对竹类植物育种提供了参考。

通过对竹子的有性生殖研究，了解了竹子的花器官构造、花粉形态与活力、胚胎发育，但是，对于竹类植物在有性生殖过程的花粉散布、传播的距离、传粉的机制，整个开花林分的交配系统等研究仍是空白。因此，对于竹类植物的花粉散布及传播距离、交配系统的研究具有重要意义。

## 2.4. 开花的分子机制

目前对竹子的开花机理研究尚处于探讨水平，没有充分的证据表明某一种或几种因素起决定作用。



然而,从基因层面上探索竹子的开花机理,将会是近些年来研究竹子开花机理的新热点。

从植物分子生物学的研究结果来看,很多相互作用的基因,形成了较为复杂的网状调控系统,它们联合起来调控着植物的花器官发育。随着分子生物学手段的应用,现代生物分子基因技术已经广泛应用于研究植物的开花机理。许多模式植物,如拟南芥的开花同源基因已被克隆分离,该类基因能够通过抑制开花、自主启动、启动光周期、春化启动4种方式的协调作用来综合控制开花[31]。使用开花的同源基因,经过转基因,调控植物的提早开花以及未开花,已经应用于竹类植物中,并用于竹子的成花机理研究。

以昆明植物所李德铎为首的课题组,在研究与竹子开花有关的基因分离和功能研究方面,有了新的研究突破。他们从已知的调控植物开花的基因入手,从竹子中分离这些基因,再通过转基因的方法,了解这些基因的功能,从而通过这些基因的表达调控来揭示竹子的开花机理[32]。

基因克隆方面,田波等[33]曾利用 RACE 法,从麻竹的幼穗中克隆了命名为 *DIMADSI-18* 的 cDNA 序列,该序列与命名为 *OsMADS6* 水稻的 *MADS* 盒基因有着高达 88% 的同源性,然而,与拟南芥的 *AGL6* 的同源性却较低,仅为 59%。将 *DIMADSI-18* 在拟南芥中异位表达,转基因拟南芥表现出开花提前,株高,叶片卷曲等性状,因此,推断 *DIMADSI-18* 可能参与调控麻竹开花时间。随后, Tian et al. [34] 将 *DIMADS8* 基因(*Leafy Hull Sterile1* 同源基因),转入到拟南芥中,结果发现,转基因拟南芥表现为卷叶和早花的表型性状,从而推测该基因可能在麻竹花的决定分生组织,控制开花时间等方面有一定的作用。之后的学者们,分别从绿竹、毛竹[35] [36]、雷竹[37]、麻竹[38]等竹子中都克隆出了与竹子开花相关的基因。

测序方面, Lin et al. [39] 分别采用绿竹经有性生殖和营养生长的试管苗,建立了相应的 cDNA 文库,通过 EST 测序来筛选与成花相关的 cDNA 片段,这些基因与拟南芥成花的多种途径相关,从而推测了竹子与拟南芥成花调控机制可能有着相似之处。

转录组方面, Zhang et al. [40] 测定了麻竹花的转录组数据库,筛选出了 290 个与成花转变有关的基因,47 个与花的发育相关的基因。2013 年,随着毛竹基因组草图的发表,分析毛竹的花序及营养组织的转录组数据,发现花分生组织的决定基因 *FMI* (*Floral Meristem Identity*) 以及和胁迫相关的基因,在毛竹的花序中表达量较高,通常的成花途径通道基因、成花途径整合因子(*FPI*) (*Floral Pathway Integrator*) 在花序中的表达量反而不高,从而推测花分生组织的决定基因 *FMI* 的激活可能与干旱胁迫密切相关 Peng et al. [41]。

### 3. 展望

竹类植物既能通过强大的地下茎系统进行无性繁殖,又能通过开花结实进行有性生殖,属于较为特殊的一类植物。由于竹类植物开花周期较长的特殊性,试验材料的获得较为困难,使得其有性生殖方面的研究报道较少,本文综述的竹类植物开花研究有利于其生殖生物学、遗传学研究奠定理论基础。

### 参考文献

- [1] 江泽慧. 世界竹藤[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2002.
- [2] 袁珂. 山海经校注[M]. 上海: 上海古籍出版社, 1980: 235-236.
- [3] 陈守良, 贾良智. 中国竹谱[M]. 北京: 科学出版社, 1988: 69.
- [4] 周芳纯. 竹林开花结实及其处理[J]. 竹类研究, 1996(2): 19-29.
- [5] Munro, C.I. (1868) A Monograph of the Bambusaceae, Including Descriptions of All the Species. *Transactions of the Linnean Society of London*, **26**, 1-157. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1968.tb00502.x>
- [6] Gamble, J.S. (1896) The Bambuseae of British India. *Annals of the Royal Botanic Garden, Calcutta*, **7**, 1-133.

- [7] Brandis, D. (1899) Biological Notes on Indian Bamboos. *Indian Forester*, **25**, 1-25.
- [8] 董文渊, 黄宝龙, 谢泽轩, 等. 箬竹种子特性及实生苗生长发育规律的研究[J]. 竹子研究汇刊, 2002, 21(1): 57-60.
- [9] 郑郁善, 高培军, 陈礼光, 等. 绿竹开花生理生化特性研究[J]. 林业科学, 2003, 39(3): 143-147.
- [10] 王小红. 水竹和慈竹开花研究[D]: [博士学位论文]. 雅安: 四川农业大学, 2007: 16-18.
- [11] 林树燕, 郝娟娟, 辛华, 等. 月月竹大、小孢子发生和雌、雄配子体发育研究[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2009(3): 9-12.
- [12] Watanabe, M., Manabe, I., Akai, T., *et al.* (1982) Flowering, Seeding, Germination, and Flowering Periodicity of *Phyllostachys pubescens*. *Journal of the Japanese Forestry Society*, **64**, 107-111.
- [13] Nagao, A. and Ishikawa, T. (1998) Simultaneous Flowering of *Phyllostachys pubescens* Grown from Seeds at Forestry and Forest Products Research Institute. *Forest Pests*, **47**, 11-14.
- [14] 上田弘一郎. 竹子的开花和死亡及正确处理[J]. 竹类研究, 1975, 11(2): 57-60.
- [15] 吴贯明. 雅竹开花过程中体内生长调节物质和营养物质的测定[J]. 南林科技, 1975(2): 28-31.
- [16] Ueda, K. (1960) Studies on the Physiology of Bamboo, with Reference to Practical Application. *Bulletin of the Kyoto University Forests*, No. 30, 167-170.
- [17] Janzen, D.H. (1976) Why Bamboos Wait So Long to Flower. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **7**, 347-391. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.07.110176.002023>
- [18] 王小红, 黄炎, 郭起荣, 等. 水竹花后更新及地下茎碳氮代谢[J]. 应用生态学报, 2010, 21(8): 1953-1958.
- [19] 柴振林, 秦玉川, 华锡奇, 等. 竹子开花原因研究进展[J]. 浙江林业科技, 2006, 26(2): 53-55.
- [20] Campbell, J.J.N. (1987) The History of Sino-Himalayan Bamboo Flowering, Droughts and Sun-Spots. *Journal of Bamboo Research*, **6**, 1-15.
- [21] 乔士义, 廖光庐. 毛竹的胚胎发育学观察[J]. 竹类研究, 1984, 3(1): 15-23.
- [22] 章日英, 考博 S.G., 亨斯基 T.J. 美国毛竹开花与繁殖的研究[J]. 竹子研究汇刊, 1986, 5(2): 44-52.
- [23] 孙立方, 郭起荣, 王青, 等. 毛竹花器官的形态与结构[J]. 林业科学, 2012, 48(11): 124-129.
- [24] 张文燕, 马乃训. 竹类花粉形态及萌发试验[J]. 林业科学研究. 1989, 2(1): 67-70.
- [25] Koshy, K.C. and Jee, G. (2001) Studies on the Absence of Seed Set in *Bambusa vulgaris*. *Current Science*, **81**, 375-378.
- [26] 王曙光, 普晓兰, 丁雨龙. 巨龙竹生殖器官形态结构及雌雄配子体的发育[J]. 植物研究, 2006, 26(3): 270-274.
- [27] 林树燕. 鹅毛竹和异叶苦竹的生殖生物学研究[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京林业大学, 2009.
- [28] 黄坚钦, 黄华宏, 何福基, 等. 雷竹的小孢子发生和雄配子体形成[J]. 竹子研究汇刊, 1999, 18(3): 55-58.
- [29] 林新春, 袁晓亮, 林绕, 等. 雷竹大孢子发生与雌配子体发育[J]. 林业科学, 2010, 46(50): 55-57.
- [30] 乔桂荣, 蒋晶, 李海营, 等. 麻竹花粉发育观察及分期[J]. 林业科学研究, 2010, 23(3): 430-434.
- [31] 张素芝, 左建儒. 拟南芥开花时间调控的研究进展[J]. 生物学与生物物理进展, 2006, 33(4): 301-309.
- [32] 陈永燕, 张光楚, 李德铎, 等. 麻竹组培苗开花的诱导及其花 cDNA 文库的构建[C]//中国植物学七十周年会议论文集. 2003: 299.
- [33] 田波, 陈永燕, 严远鑫, 等. 一个竹类植物 MADS 盒基因的克隆及其在拟南芥中的表达[J]. 科学通报, 2005, 50(2): 146-151.
- [34] Tian, B., Chen, Y., Li, D., *et al.* (2006) Cloning and Characterization of a Bamboo LEAFY HULL STERILE1 Homologous Gene. *DNA Sequence*, **17**, 143-151. <https://doi.org/10.1080/10425170600699877>
- [35] 高志民, 刘颖丽, 李雪平, 等. 一个绿竹 MADS-box 基因的克隆与序列分析[J]. 分子植物育种, 2007, 5(6): 866-870.
- [36] 高志民, 郑波, 彭镇华, 等. 毛竹 *PeMADS1* 基因的克隆及转化拟南芥初步研究[J]. 林业科学, 2010, 46(10): 39-41.
- [37] Lin, E.P., Peng, H.Z., Jin, Q.Y., *et al.* (2009) Identification and Characterization of Two Bamboo (*Phyllostachys praecox*) AP1/SQUA-Like MADS-Box Genes during Floral Transition. *Planta*, **231**, 109-120. <https://doi.org/10.1007/s00425-009-1033-0>
- [38] Xu, H., Chen, L.J., Qu, L.J., *et al.* (2010) Functional Conservation of the Plant EMBRYONIC FLOWER2 Gene be-

- tween Bamboo and Arabidopsis. *Biotechnology Letters*, **32**, 1961-1968. <https://doi.org/10.1007/s10529-010-0362-1>
- [39] Lin, X.C., Chow, T.Y., Chen, H.H., *et al.* (2010) Understanding Bamboo Flowering Based on Large-Scale Analysis of Expressed Sequence Tags. *Genetics and Molecular Research*, **9**, 1085-1093. <https://doi.org/10.4238/vol9-2gmr804>
- [40] Zhang, X.M., Zhao, L., Larson-Rabin, Z., *et al.* (2012) De Novo Sequencing and Characterization of the Floral Transcriptome of *Dendrocalamus latiflorus* (Poaceae: Bambusoideae). *PLoS ONE*, **7**, e42082. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042082>
- [41] Peng, Z., Lu, Y., Li, L., *et al.* (2013) The Draft Genome of the Fast-Growing Non-Timber Forest Species Moso Bamboo (*Phyllostachys heterocycla*). *Nature Genetics*, **45**, 456-461. <https://doi.org/10.1038/ng.2569>