

dr hab. Igor J. Chybicki, prof. UKW  
Katedra Genetyki  
Wydział Nauk Przyrodniczych  
Uniwersytet Kazimierza Wielkiego  
ul. Chodkiewicza 30  
85-064 Bydgoszcz

---

**Recenzja osiągnięcia naukowego i aktywności naukowej dr Krystyny Nadachowskiej-Brzyskiej w postępowaniu habilitacyjnym w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne**

Niniejsza recenzja została wykonana w odpowiedzi na pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie Prof. dr. hab. Andrzeja Kozika z dnia 31 lipca 2020 roku (pismo nr 446.5110.2020). Recenzja została opracowana na podstawie wniosku dr Krystyny Nadachowskiej-Brzyskiej z dnia 20 stycznia 2020 do Rady Doskonałości Naukowej o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego. Integralną część wniosku stanowią załączniki, w tym Autoreferat, kopie publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, oświadczenia habilitantki oraz współautorów prac dotyczące wkładu merytorycznego w przedstawione osiągnięcie, a także dodatkowe dokumenty uzupełniające dokumentację (m.in. informacje o stażach i grantach). Niniejszym stwierdzam, że dostarczona dokumentacja w pełni umożliwia ocenę zarówno osiągnięcia jak i aktywności naukowej Wnioskodawczyni.

**1. Najważniejsze fakty z życiorysu naukowego**

Dr Krystyna Nadachowska-Brzyska uzyskała stopień doktora w czerwcu 2011 roku przedstawiając pracę pt. „Czynniki kształtujące zmienność różnych klas markerów molekularnych u traszki zwyczajnej (*Lissotriton vulgaris*)”. We wrześniu 2011 roku rozpoczęła staż doktorski na Uniwersytecie w Uppsali (Szwecja) pod opieką prof. Hansa Ellegrena. Po ukończeniu stażu kontynuowała pracę na Uniwersytecie w Uppsali na stanowisku *Researcher* (Asystent). W okresie między 2012 a 2015 rokiem była również zatrudniona jako Asystent w Instytucie Nauk o Środowisku na Uniwersytecie Jagiellońskim, na którym pracuje obecnie od roku 2019.

**2. Ocena osiągnięcia naukowego**

Jako osiągnięcie naukowe Dr K. Nadachowska-Brzyska wskazała cykl czterech publikacji opatrzony tytułem „Czynniki kształtujące ogólnogenomową zmienność u ptaków – historia demograficzna, dobór naturalny i aspekty metodologiczne”:

1. **Nadachowska-Brzyska, K.**, Burri, R., Olason, P., Kawakami, T., Smeds, L., Ellegren, H. (2013) Demographic divergence history of pied flycatcher and collared flycatcher inferred from whole-genome re-sequencing data. *PLoS Genet* 9: e1003942.

2. **Nadachowska-Brzyska, K.**, Li, C., Smeds, L., Zhang, G., Ellegren, H. (2015) Temporal dynamics of avian populations during Pleistocene revealed by whole-genome sequences. *Current Biology* 25: 1375-1380.
3. **Nadachowska-Brzyska, K.**, Burri, R., Smeds, L., Ellegren, H. (2016) PSMC analysis of effective population sizes in molecular ecology and its application to black-and-white *Ficedula* flycatchers. *Molecular Ecology* 25: 1058-1072.
4. **Nadachowska-Brzyska, K.**, Burri, R., Ellegren, H. (2019) Footprints of adaptive evolution revealed by whole Z chromosomes haplotypes in flycatchers. *Molecular Ecology* 28: 2290-2304.

Wszystkie prace cyklu są wieloautorskie (od 3 do 6 autorów). Według informacji wynikającej z oświadczeń udział dr Nadachowskiej-Brzyskiej w powstanie publikacji był dominujący (oszacowany na 50-70%). We wszystkich publikacjach tego cyklu Habilitantka była też pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym. Udział merytoryczny Wnioskodawczyni wg deklaracji polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu i przeprowadzeniu większości analiz, interpretacja wyników, przygotowanie manuskryptu i odpowiedź na recenzje. Potwierdzają to również opisy wkładu autorów znajdujące się w oryginalnych tekstach artykułów. Dane te utwierdzają mnie w ocenie, że przedstawione osiągnięcie naukowe jest zgodne z wymogami ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. z 2018 r, poz. 1668 ze zm.), a w szczególności z Art. 219 ust. 2.

Przedstawione osiągnięcie naukowe dotyczy rekonstrukcji historii ewolucyjnej różnych gatunków ptaków oraz określenie roli, jaką w procesie ewolucji odgrywały dryf genetyczny i dobór naturalny, a także proces hybrydyzacji. Prace 1, 3 i 4 obejmują wąską grupę od 2 do 4 gatunków muchołówek z rodzaju *Ficedula* zamieszkujących Europę oraz północną Afrykę. Z kolei praca 2 przedstawia wyniki badań w oparciu o dane dla 38 gatunków reprezentujących szeroko różne grupy taksonomiczne. Jako dane wykorzystano pełne sekwencje genomu, w tym sekwencje opracowane w zespole badawczym Prof. H. Ellegrena, w którym pracowała Wnioskodawczyni. Należy podkreślić, że główny ciężar osiągnięcia naukowego leży w analizie sekwencji genomów (tj. wykorzystaniu danych), natomiast ich pozyskanie stanowi odrębne zadanie badawcze nie wchodzące w oceniane osiągnięcie. Analiza sekwencji całych genomów stanowi poważne wyzwanie badawcze ze względu na ogromną ilość danych dla pojedynczych osobników oraz niewielką liczbę replikacji. Dlatego przy obecnym stanie wiedzy aspekty metodologiczne, szczególnie identyfikacja ograniczeń i słabych stron tych metod, są ważnym celem badawczym, niemal równie istotnym co faktyczny cel biologiczny. Taki też wątek wylania się w ocenianym cyklu prac, co podkreśla tytuł osiągnięcia naukowego. Na marginesie, tytuł osiągnięcia wydaje mi się nieco niezręczny, ponieważ czytany wprost sugeruje, że do czynników zaliczają się także aspekty metodologiczne. Domyślając się intencji, uważam, że tytuł można by zmodyfikować do postaci „Czynniki kształtujące ogólnogenomową zmienność u ptaków i aspekty metodologiczne dotyczące ich identyfikacji”. Niemniej, publikacje składające się na osiągnięcie

naukowe bez wątpienia stanowią cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, a tym samym przedstawione osiągnięcie naukowe jest zgodne pod względem formalnym z wymogami ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. z 2018 r, poz. 1668 ze zm., Art. 219 ust. 1 pkt. 2b).

Praca 1 miała na celu określenie historii procesu dywergencji zachodzącego między dwoma blisko spokrewnionymi gatunkami muchołówki: żałobną i białoszyją w oparciu o sekwencje całych genomów. Jako główne zadanie badawcze można w tej pracy wyodrębnić rekonstrukcję historii demograficznej wykorzystując metodę ABC (*Approximate Bayesian Computing*) w oparciu o symulacje koalescencyjne. W tym celu wykorzystano sekwencje genomów dla 20 osobników (10 na gatunek), które poddano znacznej redukcji mającej na celu otrzymanie loci niezależnych, potencjalnie nie-neutralnych i o wysokiej jakości sekwencji. Metody ABC stanowią klasę metod aproksymacyjnych, które wymagają szczegółowej akomodacji do analizowanego problemu, zarówno w aspekcie doboru modeli symulujących możliwe (alternatywne) historie demograficzne jak i analizie wyników pod kątem potencjalnych artefaktów wpływających drastycznie na jakość rozkładów *a posteriori* docelowych parametrów. W tym zakresie badania Habilitantki mogą stanowić wzór do naśladowania. Dbalność o szczegóły metodyczne przekłada się na możliwość wyciągnięcia rzetelnych wniosków, do których można zaliczyć wykazanie, że analizowane gatunki rozdzieliły się stosunkowo niedawno (<0.7 M lat temu), redukcję wielkości populacji od momentu dywergencji oraz w przewodzie jednokierunkowy przepływ genów między muchołówką żałobną a białoszyją, datowany niedawno w stosunku do czasu dywergencji. Świadczy to o prawdopodobnym scenariuszu specjacji allopartyecznej. Wyniki badań zostały wzbogacone do analizy fluktuacji efektywnej wielkości populacji w oparciu o modelowanie tempa koalescencji wzdłuż genomu (PSMC; *pairwise sequential Markovian coalescent*), które pokazały, że tuż przed rozdzieleniem się dwóch linii filogenetycznych miał miejsce okresowy znaczny wzrost wielkości populacji linii ancestralnej.

W pracy 2 Habilitantka poddała analizie PSMC dane o pełnej sekwencji genomu dla 38 różnych gatunków ptaków. Celem tych analiz była rekonstrukcja historii demograficznej wybranych gatunków ptaków w okresie ewolucyjnym do ok. 1 miliona lat począwszy od początku Holocenu (ok. 10 tys. lat wstecz). Badania wyłoniły wspólną dla różnych gatunków ptaków cechę w postaci istnienia fluktuacji efektywnej wielkości populacji w tym okresie. W szczególności stwierdzono, że genomy ptaków noszą często (choć nie zawsze) molekularne ślady znacznej redukcji wielkości populacji datowanej na okres ostatniego lodowacenia plejstocenijskiego. Co ciekawe, nie stwierdzono związku między obecnością wąskiego gardła w okresie zlodowacenia a obecnym zasięgiem występowania gatunku, co wskazuje na pewną niekonsekwencję w obserwowanych wzorcach. Rozdzielczość metody PSMC uniemożliwia rekonstrukcję najnowszej historii, narzucając znaczące ograniczenie na przeprowadzone badania. Niemniej, ważnym wnioskiem płynącym z pracy 2 jest wykazanie, że związek między globalnymi zmianami klimatu a dynamiką wielkości populacji jest cechą wspólną wielu gatunków ptaków.

Celem pracy 3 było określenie historii demograficznej czterech gatunków muchołówek: żałobnej, białoszyjej, półobrożnej oraz altasowej. W tym celu wykorzystano pełne sekwencje genomów dla 198 osobników pochodzących z 10 populacji. Analizy historii demograficznej przeprowadzono wykorzystując metodę PSMC. Ważnym elementem tej pracy było podjęcie badań mających na celu określenie wpływu jakości danych genomowych na wyniki analizy PSMC. Dzięki analizom wstępnym możliwe było skalibrowanie analizy tak, aby zredukować wpływ stopnia pokrycia genomu oraz proporcji brakujących danych na wywnioskowane historie demograficzne gatunków muchołówek. W ten sposób praca wyznaczyła standard dla analiz PSMC, co prawdopodobnie przyczyniło się do jej popularności przejawiającej się znaczną liczbą cytowań. W kontekście biologii muchołówek praca wykazała istnienie związku między długofalową historią demograficzną a globalnymi zmianami klimatu, szczególnie w odniesieniu do okresów zlodowacenia, które drastycznie redukowały liczebność gatunku. Co więcej, analizy dostarczyły przekonujących argumentów na zachodzącą obecnie ekspansję muchołówki żałobnej, a także, choć w mniejszym stopniu, muchołówki białoszyjej. Zgodnie z otrzymanymi wynikami, odtwarzanie populacji zdaje się nie dotyczyć muchołówki półobrożnej, która znajduje się prawdopodobnie pod negatywnym wpływem degradacji siedlisk.

Celem ostatniej pracy z cyklu publikacji było określenie struktury genetycznej chromosomu Z w kontekście obecności śladów działania doboru w populacjach czterech gatunków muchołówek badanych w pracy Nadachowska-Brzyska et al. (2016). Detekcję śladów doboru oparto na analizie lokalnej homozygotyczności genomu zaproponowanej przez Voighta i in. (2006) do wykrywania loci znajdujących się pod wpływem niedawnego lub trwającego (kiedy utrwalenie allelu jest niekompletne) doboru kierunkowego. Ze względu na konieczność posiadania informacji odnośnie faz sprzężeń (haplotypów) badania ograniczono do subpopulacji 100 samic, dla których wyodrębniono sekwencje chromosomu Z, który u samic ptaków występuje w liczbie 1 kopii na komórkę (analogicznie do chromosomu X u samców ssaków). W badaniach wykazano istnienie wielu miejsc wskazujących na działanie doboru kierunkowego, choć ich lokalizacja okazała się często specyficzna dla gatunku jak i populacji. Na poziomie między-gatunkowym taka obserwacja jest zgodna z oczekiwaniami, ponieważ jest ona skutkiem niezależnej ewolucji badanych gatunków w ciągu ostatnich kilkuset tysięcy lat (na co wskazują wyniki 1 pracy cyklu). Z kolei istnienie loci pod wpływem doboru specyficznych dla populacji w ramach gatunku budzi pewne wątpliwości. Zdaniem autorów pracy uzyskany wynik może być świadectwem doboru działającego lokalnie, choć nie wykluczają oni również istnienia innych czynników zakłócających, takich jak historia demograficzna, a szczególnie efekt wąskiego gardła. W mojej opinii efekt demografii (tj. struktury genetycznej niezależnej od doboru) jest niedostatecznie eksplorowany w tych analizach, pozostawiając wrażenie „niedosytu” argumentacji w odniesieniu do faktycznego istnienia częstych, specyficznych śladów doboru. Tym bardziej, że w omawianej pracy nie podjęto próby (a przynajmniej nie opisano) identyfikacji genów, które kryją się za wskazanymi śladami doboru. Uważam, że dalsze badania nad odpornością zastosowanej metody na czynniki zakłócające

powinno pomóc rozwiązać te wątpliwości, dzięki czemu udało się uniknąć spekulacji w jakim stopniu obserwowany poziom utrwalenia jest faktycznie efektem doboru.

Jako wartościowy aspekt badań opisany w pracy 4 postrzegam wniosek płynący z porównania wyników dla subpopulacji samic i samców. Dzięki temu było możliwe pokazanie *explicite*, że bezbłędna znajomość halotypów ma kluczowe znaczenie dla detekcji śladów niedawnego doboru testem Voighta. Wykorzystanie tej metody do autosomów jest zatem możliwe jedynie, gdy dostępna jest znaczna liczba diploidalnych genomów - wówczas statystyczna rekonstrukcja haplotypów daje wyniki obarczone małym błędem. W przypadku badanej subpopulacji samców, autorzy nie byli w stanie potwierdzić obecności loci znajdujących się pod wpływem działania doboru wykrytych w subpopulacji samic, nawet przy znacznej liczbie 80 prób samców. Z kolei wskazane przez metodę loci (nie stwierdzone u samic) uznali za prawdopodobne wyniki fałszywe pozytywne. Powyższe spostrzeżenia mają istotne znaczenia zarówno dla przyszłych badań jak i interpretacji wyników badań już opublikowanych.

#### Podsumowanie:

W omówionym cyklu publikacji Dr Krystyna Nadachowska-Brzyska przedstawiła oryginalne wyniki badań z zakresu biologii ewolucyjnej ptaków. Dzięki zastosowaniu nowoczesnych metod badawczych wykazała obecność w genomie ptaków molekularnych śladów historii demograficznej (neutralnej) oraz działania doboru naturalnego. Wykazała się przy tym najlepszej próby rzetelnością naukową, szczególnie w odniesieniu do analizy danych oraz interpretacji uzyskanych wyników. Wysoką rangę uzyskanych wyników potwierdzają dane bibliometryczne czasopism, dla których średni Impact Factor (w roku publikacji) wynosi 7,27. Należy przy tym podkreślić, że wszystkie artykuły naukowe stanowiące osiągnięcie naukowe zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach naukowych.

Po lekturze publikacji składających się na osiągnięcie naukowe trudno jest mi jednoznacznie odpowiedzieć na pytanie, w jakim stopniu przedstawione badania były napędzane danymi i możliwościami ich analizy („data-driven”) a w jakim – hipotezami naukowymi („hypothesis-driven”). Ta uwaga odnosi się szczególnie do pierwszej publikacji w cyklu, której wstęp skupia się na nowych możliwościach analizy danych, natomiast problem biologiczny jest pozostawiony na marginesie. Muszę jednak podkreślić, że w czasie publikacji (2013 rok) badania Wnioskodawczynie miały charakter **pionierski**, jako przykład analizy sekwencji całych genomów gatunków niemodelowych. Mając na uwadze pionierski charakter badań, **przetawione osiągnięcie naukowe oceniam jako znaczący wkład Habilitantki w rozwój nauk biologicznych** i w pełni zgadzam się ze stwierdzeniem pojawiającym się w autoreferacie, że dzięki badaniom dr Nadachowskiej-Brzyskiej muchołówki stały się jedną z najlepiej poznanych grup kręgowców pod względem historii demograficznej. Na równi wysoko oceniam przy tym wkład w rozwój biologii ewolucyjnej ptaków jak i wkład w rozwój metod badawczych tej dziedziny. Do najważniejszych osiągnięć uzyskanych w toku realizacji badań przedstawionych w cyklu publikacji zaliczam:

1. Dostarczenie argumentów świadczących o allopatrycznej specjacji u muchołówek.
2. Wykazanie istotnej roli dryfu genetycznego w ewolucji gatunków ptaków powiązanego z okresowymi globalnymi zmianami klimatu.
3. Wykazanie istnienia licznych śladów działania niedawnego (lub nadal trwającego) doboru kierunkowego u badanej grupy, umożliwiającym wskazanie potencjalnych loci podlegających nieneutralnej ewolucji.
4. Wykazanie istotnego wpływu jakości sekwencji genomu na wyniki rekonstrukcji historii demograficznej.

## 2. Ocena aktywności naukowej

Dr Nadachowska-Brzyska posiada w dorobku naukowym 17 artykułów naukowych, w każdym przypadku opublikowanych w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym (indeksowanym przez WoS). Po uzyskaniu stopnia doktora Habilitantka opublikowała łącznie 12 artykułów naukowych, z czego 8 stanowi dorobek naukowy nie włączony do osiągnięcia naukowego. Wśród tych artykułów znajdują się publikacje w tak renomowanych czasopismach jak *Nature* czy *Molecular Biology and Evolution*. Dorobek naukowy można ocenić jako spójny tematycznie, ponieważ dotyczy on powiązanych ze sobą zagadnień z zakresu biologii ewolucyjnej, tj. znaczenia doboru, dryfu i przepływu genów w procesie dywergencji i specjacji różnych grup kręgowców. Część publikacji naukowych jest owocem pracy w zespole prof. H. Ellegrena (Uniwersytet w Uppsali), część wynika z kontynuowania współpracy naukowej z naukowcami z ośrodka macierzystego, tj. Uniwersytetu Jagiellońskiego. Wszystkie prace opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora są wieloautorskie, przy czym Habilitantka jest pierwszym autorem w jednym artykule, który (zgodnie z deklaracją w tekście artykułu) stanowił część Jej rozprawy doktorskiej. Wkład w powstanie prac spoza osiągnięcia jest trudny do oceny, za wyjątkiem pracy „pierwszoautorskiej” oraz 3 artykułów, w których znajduje się jawna deklaracja wkładu poszczególnych autorów. Z tych deklaracji wynika, że Wnioskodawczyni brała udział w analizach danych. Niemniej, jawny udział Habilitantki w zespole autorskim potwierdza jej istotny wkład w powstanie tych prac a także umiejętność pracy w zespołach naukowych, która jest nieodzowna w przypadku, gdy badania mają charakter empiryczny i bazują na nowoczesnych metodach molekularnych i statystycznych. Na podstawie dorobku Dr Nadachowska-Brzyska wyłania się jako specjalista w zakresie analizy i interpretacji danych pod kątem molekularnych śladów dywergencji. Wyrazem dużego znaczenia badań realizowanych z Jej udziałem są dane bibliometryczne, które na dzień formułowania recenzowanego wniosku przedstawiają się imponująco: Indeks Hirscha = 9, Liczba cytacji bez autocytoowań = 780, sumaryczny wskaźnik Impact Factor = 117,2.

Poza dorobkiem publikacyjnym, Habilitantka legitymuje się także cennym dorobkiem naukowym w postaci pełnienia funkcji recenzenta manuskryptów składanych do prestiżowych czasopism naukowych takich jak *Molecular Ecology*, *Molecular Biology and Evolution*, *Nature Ecology and Evolution* czy *Molecular Ecology Resources*. Ponadto była członkiem rady redakcyjnej czasopisma *Ecology and*

*Evolution*. Praca dla takich czasopism jest wyrazem uznania Habilitantki przez międzynarodowe środowisko naukowe.

Ważnym aspektem działalności naukowej jest pozyskiwanie środków na badania w postaci grantów. Biorąc pod uwagę okres po uzyskaniu stopnia doktora, Habilitantka wykazała ograniczoną aktywność w tym zakresie, otrzymując jeden grant w konkursie Narodowego Centrum Nauki Sonata Bis w 2019. Należy jednak podkreślić, że 5-letni grant ma między innymi na celu powołanie nowego zespołu badawczego, co świadczy o chęci zajęcia pozycji lidera zespołu i napawa ze wszech stron optymizmem.

Habilitantka wykazuje również aktywność naukową jako aktywny uczestnik konferencji naukowych i sympozjów, podczas których wygłosiła łącznie 7 referatów (w okresie po doktoracie). Pełniła także funkcję przewodniczącego komitetu organizacyjnego 50 Międzynarodowych Warsztatów Biologii Ewolucyjnej, jednakże miało to miejsce jeszcze przed uzyskaniem stopnia doktora.

Habilitantka nie prowadziła regularnych zajęć dydaktycznych na poziomie szkoły wyższej, co wynikało wprost z charakteru stanowiska na którym była zatrudniona. Niemniej, posiada Ona w swoim dorobku aktywności naukowej także doświadczenie w zakresie realizacji zajęć warsztatowych i wykładów. Sprawowała także opiekę naukową nad dwoma magistrantami oraz doktorantem (dr Ludovic Dutoit, Uppsala), a także pełniła funkcję promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim dr. Piotra Zielińskiego (Uniwersytet Jagielloński). Trwały owoc sprawowanej opieki merytorycznej stanowią bardzo dobre publikacje naukowe znajdujące się w dorobku Habilitantki.

### **3. Wniosek końcowy**

Przedstawiony we wniosku dorobek naukowy, zarówno w postaci osiągnięcia naukowego jak i aktywności naukowej wskazuje, że Dr Krystyna Nadachowska-Brzyska jest dojrzałym, ukształtowanym pracownikiem naukowym. Osiągnięcie naukowe pokazuje, że Habilitantka realizuje badania naukowe na najwyższym światowym poziomie, a wyniki tych badań stanowią w mojej ocenie cenny wkład w dyscyplinę Nauki biologiczne. Tym samym stwierdzam, że przedstawione osiągnięcie naukowe oraz aktywność naukowa Wnioskodawczynie spełniają warunki określone w ustawie „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. z 2018 r, poz. 1668 ze zm.), dotyczące nadania stopnia doktora habilitowanego. **Jednocześnie składam wniosek do Komisji Habilitacyjnej o podjęcie stosownej uchwały opiniującej pozytywnie wniosek Dr K. Nadachowskiej-Brzyskiej o nadanie stopnia doktora habilitowanego.**

Bydgoszcz 06.10.2020

  
dr hab. Igor J. Chybicki, prof. UKW