基于微藻多量度指标法提高河流和湖泊生物学状态评价准确性的研究进展

李丹敏^{1,2}, 刘波^{1,2,3*}, 陈硕^{1,2}, 管越强^{1,2}

1. 河北大学生命科学学院, 保定 071002;

2. 河北大学生命科学与绿色发展研究院, 保定 071002;

3. Department of Integrative Biology, Michigan State University, East Lansing, MI 48824, USA

* 联系人, E-mail: liubo@hbu.edu.cn

收稿日期: 2021-05-10; 接受日期: 2021-05-28; 网络版发表日期: 2021-09-14

河北省自然科学基金绿色通道项目(批准号: D2020201003)和河北大学引进高层次人才科研项目(批准号: 521000981302)资助

摘要 多量度指标(multimetric index, MMI)是一种广泛应用于淡水生态系统生态评价的方法, 它能综合各种与生态有关的量度信息, 并为进一步评价和管理提供一个易于理解的分值. 准确评估淡水生态系统的生物学状态必须扣除自然变异的影响和解决自然环境因子与人为干扰因子之间的协变问题. 最近几年, 研究人员在上述两个方面取得了诸多进展. 当下主要利用三种方法提高湖泊和溪流生物评价的准确性: 按生态区或藻类物种组成对样点进行建模前分类、对样点的参考状态进行样点特异性建模分析和在不同的分组中采用不同的量度指标. 所有已有的研究结果都支持对样点进行特异性建模法可以有效地扣除自然变异的影响, 并最终通过模型计算出具有良好表现的MMI. 然而, 在扣除湖泊或河流中的自然变异方面, 目前没有足够的证据表明依据硅藻/蓝藻物种组成的样点分类法优于依据生态区的分类法. 另外, 区分对样点特异性建模法和在不同样点组中采用不同量度指标法所解释的自然变异百分数, 对于全面、准确地评价按藻类物种组成进行样点分组方法的作用是十分必要的. 在不同样点组中使用不同量度指标法在溪流和湖泊中的表现不同, 这很可能是由于硅藻量度指标对溪流和湖泊的生物学状态代表性不足, 而不是由溪流和湖泊中复杂的多重胁迫因子造成的. 本文的目的是回顾近年来利用藻类的MMI分析方法在确定湖泊和河流生物学状态方面的研究进展, 以及在比较MMI表现过程中应注意的一些统计学问题.

关键词 生态评价, 多量度指标, 微藻, 生物学状态, 国家湖泊评价, 国家河流和溪流评价

美国环境保护局(U.S. Environmental Protection Agency, USEPA)资助的国家湖泊评价(National Lake Assessment, NLA)项目和国家河流和溪流评价(National Rivers and Streams Assessment, NRSA)项目的一个重要目的是提供全国范围内具有健康生物学状态

的湖泊和溪流总体状况的信息. 淡水生态系统中生物学状态的评价要优于化学和物理生境结构的评价, 因为生物学状态评价可以综合长期的多种人为胁迫因子的影响^[1,2], 并且受自然变异和取样投入努力程度的影响较小^[3]. 基于鱼类^[4,5]、大型无脊椎动物^[6~8]、植

引用格式: 李丹敏, 刘波, 陈硕, 等. 基于微藻多量度指标法提高河流和湖泊生物学状态评价准确性的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 1287–1298
Li D M, Liu B, Chen S, et al. Improving biological condition assessment accuracy by multimetric index approach with microalgae in streams and lakes (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 1287–1298, doi: 10.1360/SSV-2021-0236

物^[9~11]和藻类^[12~14]的结构和功能的量度指标, 通常被应用于淡水生态系统的生物学状态评价中。藻类, 尤其是底栖硅藻, 在生物学状态评价中发挥着独特的作用, 因为它们通常物种丰富, 易于收集, 并且对许多环境变量敏感^[15~17]。在对湖泊生物学状态评价中, 基于硅藻指数的分离能力与在河流生物学状态评价中基于鱼类指数的分离能力相当^[17,18]。因此, 硅藻曾是美国环境保护局国家水生资源调查中唯一用于湖泊、溪流/河流和湿地生态评价的生物类群。近年来, 研究人员为提高利用藻类定义湖泊^[14,19~21]和河流^[13,22~26]生物学状态的准确性做出了很多探索工作, 并取得了很大进展。

为了数据共享和结果比较, 微藻评价的一个重点是一致性问题, 包括底栖光合植物(或浮游植物)数据的收集和解释等, 这超出了本文的讨论范围。生物评价中的一致性问题早先是由Cao和Hawkins^[27]进行了一般总体性回顾, 然后由Poikane等人^[28]对欧洲湖泊和河流中的底栖藻类评价进行了全面系统的总结。最近, 来自欧洲和美国的科学家一起充分讨论了底栖藻类评价中的一致性问题, 这是迄今为止对该主题的最全面的回顾和总结, 他们系统地比较了欧盟和美国在藻类评价一致性上的异同^[29]。

生物指数、多量度指标(multimetric index, MMI)(通常称为“生物完整性指数”)和观察/预期物种比值(observed/expected taxa ratio, O/E)是用来描述湖泊和河流生物状态的三种主要指数^[27]。与O/E指数相比, MMI方法更常用于评价淡水生态系统的生物学状态^[30~32], 尤其是在美国^[33~35]。与单一指标不同, MMI方法可以包含生物群落的多种特征, 并且与人类胁迫因子有更好的相关性^[31,36~38]。

由于环境因子间的协变、人为干扰和量度指标之间的相互作用可能十分复杂, 因此矫正环境因子对指标的影响对于准确计算湖泊和河流中的MMI至关重要^[26,39]。MMI方法需要根据湖泊或溪流的多种信息, 如水质数据、土地利用和土地覆盖信息等, 事先确定参考点, 以扣除区域内的自然变异(生物、化学和物理)^[40]。每一个量度指标, 如物种丰富度或耐污种类, 都假定代表湖泊或河流一个维度的生物学状态。然后计算并提供参考状态和观测状态之间的偏差(即扣除本底后的量度指标)。通常至少需要四类量度指标来全面反映淡水生态系统的生物学状态。一类量度指标至少包括一个量度指标, 每一类量度指标对最终MMI分

数的贡献相同。MMI是综合多个量度指标的总得分^[41,42]。MMI得分越高, 说明湖泊或河流的生物学状态越好。

对样点事先分类、针对样点特异性建模和对不同的样点组使用不同的量度指标是三种扣除自然变异的常用方法。基于生态区和基于样点的生态类型或景观类型的分类法在生态评价中长期被用来确定湖泊溪流的参考状态^[43]。然而这两种方法在确定湖泊、溪流和河流的生物学状态方面都没有产生令人满意的结果^[24,43]。生物物种组成, 即根据硅藻物种组成的相似性定义的湖泊或河流的自然相似类型, 被认为能产生具有更好表现的MMI, 因为它们能识别湖泊或河流中导致硅藻物种组成变化的主要自然因子。然而, 到目前为止, 使用藻类物种组成比使用生态区能更好地定义河流湖泊生物学状态的证据并不充分^[21,25]。同样, 在不同的样点组中使用不同的硅藻量度指标似乎只能帮助提高溪流和河流中MMI的表现^[25]。但针对样点特异性建模方法, 不论是在溪流中还是在湖泊中都可以有效地扣除境内的自然变异, 并能更好地估计人为干扰的影响^[17,21,25]。

MMI结果的一致性、重现性和可解释性对于大规模生物评价和清楚地向公众解释淡水生态系统的生物学状态至关重要^[2,27]。先前, MMI方法的建立和应用因单一量度指标选择方法等问题而受到批评^[44]。自20世纪90年代以来, 多量度指标方法变得越来越成熟和标准化, 使得该方法更容易被非专业人士理解和应用。对于量度指标的选择, Stoddard等人^[45]提出的基于极差检验、信噪比(signal-to-noise ratio, S/N)、Z统计量的绝对值以及与其他量度类别中的量度指标的相关性的标准, 越来越多地被用来筛选候选量度指标。在赋分值方面, 为了便于使用和解释, 最常用的是给予量度的连续评分(如从0到10), 然后重新调整到100。一个良好表现的MMI应具有大的极差、小的精度和偏差、高区分力、对流域内人为压力高度敏感的特点^[46~48]。最近的一项研究表明, 在中高人为干扰水平下, 加入蓝绿藻量度指标可提高基于硅藻的MMI在确定湖泊生物学状态方面的表现。另一方面, 随着统计学在MMI建模中的应用越来越广泛和深入, 本文也讨论了生态评价领域中研究人员面临的统计学方面的挑战, 特别是在评价MMI表现时有关统计检验显著性水平的设定问题和评价MMI表现时的多重比较问题。

1 提高湖泊藻类状态评价准确性的方法

迄今为止, 大多数关于藻类生物学状态评价的文章, 其研究对象大都是溪流和河流而不是湖泊^[28]. 一些较大规模的评价研究(如>1000个湖泊/溪流)主要是基于美国环境保护局2007年NLA项目和2008~2009年NRSA项目的数据(表1)^[49,50]. 这些研究的重点是探究有效扣除自然变异的方法, 并准确定义湖泊和河流的生物学状态. 起初, Stevenson等人^[17]假定自然变异与一系列自然环境因子之间存在线性关系, 并利用多变量统计学技术——多元线性回归(multiple linear regression, MLR)扣除样点的自然变异. 然后, Tang等人^[25]以及Liu和Stevenson^[21]发现, 在针对样点的特异性建模中, 使用更复杂的多变量统计学技术, 例如分类和回归树(classification and regression, CART)和随机森林(random forest, RF)能更好地模拟硅藻量度指标和自然环境因子之间的关系, 并生成具有更好表现的MMI. 同时, Tang等人^[25]以及Liu和Stevenson^[21]也研究了根据硅藻物种组成的不同进行样点分组和对不同样点组使用不同的量度指标对MMI表现的影响. 为了解

决高人为干扰水平样点中MMI表现较差的问题, Liu等人^[14]发现, 将蓝藻量度指标引入到MMI建模中可以提高MMI在高人为干扰水平样点中的区分能力, 并提出在生态评价中应根据人为干扰水平的不同而有选择地使用硅藻和蓝藻量度指标.

1.1 根据生态区或藻类物种组成对样点进行分类

根据藻类物种组成和生态区对样点提前进行分类是生态评价中控制自然变异的两种常用方法. 在美国环境保护局的国家水生资源调查中, 传统上使用生态区来扣除自然变异和评价MMI的表现^[49,50]. 然而, 按生态区进行样点分类的一个主要问题是, 决定陆地物种组成的主要环境因素可能与淡水生态系统中的不太相同. 因此, 在扣除自然变异影响和生成良好表现力的MMI方面, 根据藻类物种组成对样点分组可能比依据生态区的更好. 然而到目前为止, 无论是在湖泊中(表2)^[21]或在河流和溪流中^[25], 支持通过藻类物种组成进行样点分组能产生具有更好表现MMI的证据还不充分. 原因可能不是藻类物种组成解释的样点内的自然变异相对少^[24], 而是由于仅基于硅藻量度指标的藻类

表 1 近年来发表的基于藻类的生物学状态评价的相关文献^{a)}

Table 1 Some recent publications on defining biological conditions with algae^{a)}

生境	模型	比较尺度	分析尺度	使用微藻	SSMM-技术	量度指标	参考文献
湖泊	NLA-MLR	全美	全美	底栖硅藻	MLR	否	[17]
	Eco III-13M	全美	Eco-3	底栖硅藻	MLR, CART, RF	否	[21]
	Eco III-SM	全美	Eco-3	底栖硅藻	MLR, CART, RF	是	[21]
	DT-13M	全美	Typo-5	底栖硅藻	MLR, CART, RF	否	[21]
	DT-SM	全美	Typo-5	底栖硅藻	MLR, CART, RF	是	[21]
	AT-SM	全美	Typo-5	底栖硅藻和软藻	RF	是	[14,51]
	DT-PLNLOW	美国平原和低地生态区	Typo-4	底栖硅藻	RF	否	[14,51]
	AT-PLNLOW	美国平原和低地生态区	Typo-4	底栖硅藻和软藻	RF	是	[14,51]
溪流	IBI	美国南加州	Typo-3	底栖硅藻和软藻	无	是	[13]
	ET-MMI1	全美	Eco-9	底栖硅藻	无	否	[25]
	ET-MMI2	全美	Eco-9	底栖硅藻	无	是	[25]
	EM-MMI1	全美	Eco-9	底栖硅藻	RF	否	[25]
	EM-MMI2	全美	Eco-9	底栖硅藻	RF	是	[25]
	DT-MMI	全美	Typo-7	底栖硅藻	RF	是	[25]
	MMI	美国加州	Typo-3	底栖硅藻和软藻	RF	是	[52]

a) DT(diatom typology)和AT(algae typology)分别表示硅藻和全藻类物种组成. ET-MMI(ecoregion-based traditional MMI)表示基于生态区的传统MMI, EM-MMI(ecoregion-based and modeled MMI)表示基于生态区和建模的MMI. 分析尺度表示选择指标的尺度. SSMM(site-specific metric models)技术表示针对样点特异性量度模型所采用的统计学技术. “是”表示在不同的样点组中使用了不同的量度指标, 如果在所有样点组中使用了同一套指标, 则是否变化量度指示一栏为“否”

表 2 基于硅藻物种组成的MMIs在美国第三水平生态区的湖泊中的表现^{a)}

Table 2 Performance of diatom typology based MMIs in level III ecoregions in lakes^{a)}

生态区/组	模型	极差	精度(参考样点MMIs方差)	敏感度	
				胁迫因子(<i>t</i> -值)	HDG
E-EHIGH	Eco III-SM	73.38	83.64	10.10	-0.60
E-PLNLOW	Eco III-SM	73.36	169.09	12.25	-0.13
E-WMTNS	Eco III-SM	88.90	328.46	6.97	-0.24
E-EHIGH	Eco III-13M	68.55	88.70	9.55	-0.56
E-PLNLOW	Eco III-13M	74.22	160.86	12.15	-0.14
E-WMTNS	Eco III-13M	63.73	218.93	6.08	-0.17
E-EHIGH	DT-SM	77.48	62.64	11.20	-0.50
E-PLNLOW	DT-SM	97.90	191.67	10.10	-0.21
E-WMTNS	DT-SM	97.15	148.79	5.27	-0.27
E-EHIGH	DT-13M	71.50	60.42	10.81	-0.50
E-PLNLOW	DT-13M	85.57	146.81	15.59	-0.19
E-WMTNS	DT-13M	87.92	109.11	7.79	-0.20

a) 东部高原(eastern highlands, EHIGH)、平原和低地(plains and lowlands, PLNLOW)和西部山区(western mountains, WMTNS)是大陆相连的美国48州归类聚集以后的三个生态区. 数据修改自Liu和Stevenson^[21]的结果

物种组成代表性不足^[14]. Liu等人^[14]研究发现, 在人为干扰水平较高的样点, 与仅基于硅藻的MMI表现相比, 将蓝藻量度指标加入样点分类后能显著提高MMI的表现.

对参考样点进行分类的目的是使一组中的硅藻物种组成更相似, 而与其他组中的样点不同. 对于聚类分析而言, 分层次聚类法(例如, 最常用的UPGMA方法(unweighted pair group method using arithmetic averages))和非层次分割聚类法(例如, *K*-均值聚类)都可以满足通过有限数量的分组解释的组内变异百分比的要求^[21,25]. 此外, Liu和Stevenson^[21]在聚类分析过程中使用弦距离来测量两个参考样点之间藻类物种组成的相似性, 发现弦距离与欧几里德距离同样有效.

在对参考样点进行分类时, 需要权衡参考样点组数和组内变异解释百分数之间的关系. 从统计学的角度来看, 本团队的经验表明, 如果一个样点的参考样点数量很少(如<5), 会导致在使用多变量统计方法(如随机森林)生成最终MMI的过程中停止运行. 另一方面, 随着参考样点数量的增加, 模拟量度指标的交叉验证误差会随之减小, 这会提高模型预测的准确性. 因此, 每个样点组中需要保留一定数目的参考样点. 另一方面, MMI的表现不仅与样点沿人类干扰梯度

(human disturbance gradient, HDG)的分布情况等因素有关, 还与用于模拟量度指标的多变量统计学技术有关(图1)^[21]. 当样本量较大时, 复杂的多变量统计学技术可以做出更准确的预测; 而当样本量较小时, 中等水平的统计学技术(如CART)效果更好.

理论上, 利用藻类物种组成对样点分类在解释自然变异和定义淡水生态系统的生物学状态方面应优于生态区. 然而, 这一观点并不能被来自溪流和河流的研究结果完全证实, 可能是由于以下原因: 第一, 相较于根据藻类物种组成分类所解释的变异, 大多数变异已经被样点特异性建模方法所扣除^[24]; 第二, 与陆地群落不同, 在淡水生态系统中, 需要阐明调控物种组成的确切环境因子; 第三, 每个量度指标被假定代表生物学状态的一个维度, 但不是所有具代表性的量度指标都能通过Stoddard等人^[45]对量度指标的要求, 这可能会导致每个样点组的参考状态的同质性降低. 本团队^[14]的研究结果显示, 在美国平原和低地生态区(plains and lowlands, PLNLOW), 将蓝绿藻指标融入湖泊样点分类中可以产生具有更好分离能力的MMI. 准确量化每种分类方法所解释的自然变异, 并阐明影响湖泊或河流中藻类物种组成的环境因子, 可能将有助于全面评估藻类物种组成分类法是否是生态评价中的一种有效方法.

图 1 在模拟美国生态区EHIGH的低氮硅藻物种(%)量度指标时, 参考样点数量对随机森林模型与分类和回归树模型交叉验证误差的影响. 指定采样湖泊中TN浓度的第25个百分点数和第75个百分点数分别为低和高的状态. TN<309 mg/L为低氮湖泊, TN>1174 mg/L为高氮湖泊

Figure 1 Effect of the number of reference sites on cross-validation error by random forest and classification and regression trees on diatom metric, percentage low-N taxa in eastern highlands region (EHIGH) in the US. The 25th and 75th percentiles of TN concentrations among sampled lakes were used to designate low and high statuses. Thus, lakes with TN<309 mg/L were low-N lakes, and lakes with TN>1174 mg/L were high-N lakes

1.2 预期参考状态的样点特异性建模

湖泊和河流的景观变量(淡水景观、陆地景观和人类景观变量)各不相同. 另外, 景观变量中的哪一个空间尺度变量是水体中化学环境因子(磷、氮等)的主要驱动力仍存在争议^[53]. 因此, 研究者应尽可能利用接近单样点的相关数据, 或针对单样点建模法模拟生态系统的生态状况. 随着统计学技术的快速发展, 更复杂的多变量统计学技术(随机森林和神经网络等)应运而生, 这些技术通常具有高预测能力, 因为它们不仅可以对等式右侧的环境变量的影响进行建模, 还允许变量之间存在相互作用^[54]. Giri等人^[55]发现, 随机森林在解释河流完整性变化方面优于增强回归树, 因为随机森林能够解决过度拟合问题, 并为每个独立生长的树提供相同的权重用于最终决策. Shabani等人^[56]以及Park和Kim^[57]也发现了利用随机森林建模的优越性. 长期以来, 许多研究已证实, 针对样点特异性预测比采用区域参考样点方法能更有效地扣除自然变异^[21,25,46,58].

生态评价的一个重要目的是确定影响湖泊/河流水质的潜在胁迫因子, 并估计潜在胁迫因子的范围. 通常, 在湖泊和河流的调查中包括大多数自然环境因素

(如气候、地理、地质和水文地貌变量). 研究发现, 淡水生态系统的地质和气候变量在扣除参考样点的自然变异和模拟硅藻量度指标方面发挥着重要作用^[21]. 然而, 这里的一个假设是, 已经收集并在数据分析中包括了所有相关的环境因子. 在某些情况下, 其他一些“非传统变量”, 如上游河流来水和不同淡水生态系统之间的互相关联, 或多或少会影响目标淡水生态系统的状况^[59,60]. 另一方面, 更详细的湖泊/河流周围的土地利用和土地覆盖数据(如不同类型农业土地利用的详细信息: 永久草地与耕地、肥料的压力和排水情况), 对于选择一个合格的量度指标和模拟出具有良好表现的MMI也极具价值^[14,61].

1.3 在不同的样点组中使用不同的量度指标以及量度指标的代表性

不同样点组中使用不同的量度指标的假设是, 在大规模生态评价中, 在特定样点组中表现较好的一些量度指标可能不会在所有样点组中都表现良好. 因此, 在不同样点组中使用不同量度指标可能有助于提高MMI的表现(例如分离能力). 然而, 在此情形下评价的一致性同时会受到损害^[2]. 到目前为止, 在美国全国尺度的河流和溪流评价中, 将不同样点组中使用不同的量度指标的方法和针对不同样点量度指标进行特异性建模的方法一起使用时, MMI表现得到明显改善^[25], 但在湖泊评价中则不然(表2)^[21]. 此外, 生态评价中的不同样点组中是否使用不同的量度指标取决于项目的评价目标, 是取准确性或是一致性.

生物群落的结构性和功能性量度指标被期望是全面的、综合的, 能代表生物学状态各维度信息^[21,30]. 然而, 即使在同一个大陆内, 在一个地区行之有效的某些硅藻量度指标, 对另一个地区也不一定同样有效^[16]. 当下, 对淡水生态系统的生态评价主要依靠单一的藻类物种组成(主要是底栖硅藻), 大多数研究的对象是河流和溪流, 而不是湖泊^[20,28]. 虽然软藻与硅藻有许多共同的生态特征^[51], 但是只有少数研究在评价中同时使用了这两种方法来建立MMI. 软藻量度指标的三个缺点可能是: 硅藻在大多数样本中是优势种, 软藻难以鉴定, 以及对软藻的个体生态学特征缺乏了解^[51]. 但是, 一些特征使得软藻(尤其是浮游蓝藻)与硅藻代表的生物学状态不同, 有助于提高生态评价的精度: 第一, 蓝藻本身是淡水生态系统的一个重要成员, 其

生境通常不同于硅藻; 第二, 蓝藻和硅藻为了维持稳定的种群数量对不同资源的最低需求通常不同, 蓝藻和硅藻之间存在对必需资源的竞争^[51]; 第三, 过量的蓝绿藻会恶化水质, 它们本身就是淡水生态系统生物学状态的关注焦点。

与生态评价中常用的其他生物种类(鱼类、大型无脊椎动物、植物)相比, 藻类(如硅藻)对富营养化状态的反应更灵敏^[15]。然而, 除了对藻类量度指标的最低要求外, 淡水生态系统中人为干扰梯度的复杂性和对更高评价准确性的期待, 要求研究人员重新考虑如何完善量度指标的选择。一些研究表明, 仅由硅藻量度指标构建的MMI在区分中度和高度干扰区域的样点方面存在问题^[43,46,48]。在中度和高度扰动的河流^[13]和湖泊^[14]中, 与仅基于硅藻量度指标构建的MMI相比, 组合使用硅藻和软藻量度指标构建的MMI对样点具有更高的分辨力。在满足对量度指标的要求方面, 蓝绿藻量度指标(*Microcystis*+*Dolichospermum*(%))与其他硅藻量度指标相似(表3), 且在随后构建最后MMI的处理中与硅藻量度指标相同^[14]。因此, 混合MMI表现更好的原因可能是: 在高度人为干扰的湖泊中, 蓝绿藻量度指标代表了硅藻量度指标不能代替的一个生物学状态的重要维度。与低水平人类干扰的样点不同, 出于提高评价准确性的目的, 有必要在中度和高度人类干扰水平下的淡水生态系统评价中融入蓝绿藻指标进行MMI构建。

另一种解决中度和高度干扰河流/湖泊中MMI表

现不佳问题的方法是根据它们对人类干扰的响应情况来赋予它们在构建最终MMI中的权重。按照惯例, 假设所有量度指标对最终MMI分数的贡献相等。然而, 在过渡地区水域(即河口、海湾、沿海潟湖), Alvarez等人^[62]研究发现, MMI的变化受到不同量度指标的不成比例的影响, 一些量度指标甚至对最终构建的MMI没有影响。虽然在河流和湖泊中没有进行类似的综合测试, 但是除了Stoddard等人^[45]对指标的共同要求外, 可能还需要对量度指标类别、量度指标数量和量度指标间的相关性有一些额外的要求, 以提高评价的准确性。例如, 贝叶斯方法可以解决某些量度指标对胁迫因子缺乏检测能力的问题^[63]。

2 藻类状态评价-统计学方面的挑战

从参考样点的聚类分析到MMI的表现评价, 生态评价涉及到许多统计学方法。因此, 如何将藻类生长与淡水水质联系起来并将评价结果解释给非专业人员, 对于该领域的研究人员来说越来越具有挑战性。通常, 有多种方法可以达到一个特定的目标(例如, MLR, CART和RF都可以用来模拟溪流/湖泊中硅藻/蓝绿藻量度指标的预期参考值), 但在选取统计学方法以及如何解释相应的结果时应谨慎。

2.1 全国与区域尺度的比较

无论是美国环境保护局的NRSA项目还是NLA项

表 3 在美国平原和低地生态区中硅藻和蓝绿藻量度指标满足Stoddard等人^[47]要求的表现

Table 3 Performance of diatom and blue-green algae metrics following the requirement of Stoddard et al.^[47] in the PLNLOW region of the US

备选量度指标	参照点		干扰点		信噪比	Z统计量绝对值
	最小值	中位数	最小值	中位数		
耐受种类(%)	0.35	0.87	0	0.54	0.98	9.55
参照种类(%)	0.03	0.72	0	0.25	1.08	9.27
物种丰富度	0	0.47	0	0.39	0.96	2.42
附生在植物上的个体(%)	0	0.50	0	0.50	1.38	2.63
低P种类(%)	0.08	0.65	0	0.25	1.02	8.84
高P种类(%)	0.21	0.85	0	0.42	1.03	9.58
高N种类(%)	0.28	0.83	0	0.46	0.96	9.57
<i>Cocconeis</i> (%)	0	1	0	0.50	1.03	3.46
<i>Microcystis</i> + <i>Dolichospermum</i> (%)	0	0.47	0	0.26	1.05	3.72

a) 数据修改自Liu等人^[14]

目都横跨整个美国大陆, 包括1000多个样点(NRSA项目超过2000个), 这使得比较不同样点组之间(基于生态区或藻类物种组成)MMI的表现成为可能. 在大多数情况下, 使用根据生态区分类法或根据藻类物种组成的分类法在对溪流/湖泊(尤其是参考样点)进行分类时, 产生的结果不同. 从统计学的角度来看, 当不同样点组中有不同数量的样点时, 不同样点组的方差均值与所有样点的总方差均值并不相同. MMI的表现, 如参考样点MMI的方差, 一般与样本量有关^[23]. 因此, 通过给出不同样本量样点组MMI的均值和标准误差的方法来描述MMI表现差异的一般规律具有争议性^[23,24]. 即使MMI的均值和标准误差可能不会被用来检验某一类型的MMI或另一个MMI的表现显著高于其他MMI的假设, 但如果解释不当, 很容易让读者感到困惑. 同样地, 由于使用了样本容量和标准差来计算 t 值, 因此区域尺度和全国尺度间对胁迫因子的敏感度(MMI的反应性)和胁迫因子的相关系数(MMI的相关性)的评价结果也大都不同^[23]. 所以, 在做全国尺度的总结报告和根据具有不同样本量的样点组计算出的多个统计量(即区域尺度结果)得出全国尺度的结论时, 应倍加谨慎.

2.2 显著性水平设定

统计显著性是用来描述观察到的差异在多大的概率上仅仅是由于随机抽样而偶然发生的. 使用 P 值0.05(或0.01等)进行统计学显著性检验, 近期受到发表在*Nature*^[64]上的一篇文章和*The American Statistician*^[65]一期特刊的严重质疑. 对这一话题的全面深入的探讨超出了本文的范围, 但鉴于 P 值在藻类评估中评价MMI表现的诸多用途, 本文将在在此做一些有关解释.

研究人员呼吁放弃 P 值有两个主要原因: 首先, P 值在某种程度上是一种“污染”, 它模糊了一些重要的东西, 如实际测量了哪些东西、检验了哪些预测(如果有的话)、研究中变量之间的关系是怎样的、有无可能的其他解释等; 其次, 显著性水平有时能提供可靠的决定, 但无论它所带来的好处是什么, 都可能被下列因素所抵消: (i) 它总是会增加噪音, 提供了不可靠的决定, (ii) 它给许多研究者带来了虚假的安全感(<https://statmodeling.stat.columbia.edu/2019/03/20/retire-statistical-significancethe-discussion/>). 因此, 一派观点是即使不能完全放弃 P 值, 也要停止二分法地使用 P 值来决定

一个结果是反驳还是支持一个假设.

很多使用和“消费”统计数据的人真诚地相信, 不显著意味着“忽略这个, 它不是真正的发现”. 然而, 这不是正确的. 统计学上的显著可能在现实中并不重要. 因为统计显著性没有体现效果大小的幅度, 只体现出有这一效果. 使用检验显著性的一些惯例是: (i) 通常采用现实中的标准; (ii) 没有“显著清晰”的分界线, 例如, 4.9%和5.1%; (iii) 真正值得关注的是 P 值的数量级: “有点显著”“显著”或“非常显著”. 从技术上讲, 即使是最小的影响, 只要样本量足够大, 也能达到显著.

尽管统计学显著性有缺陷, 但确实从某种程度上提供了可靠的结论. P 值回答的问题是: 随机选取的样本在多大程度上会产生更极端的结果. 另一方面, 有些期刊以统计学显著性水平作为标准之一来选择发表论文. 由于 P 值是一个统计量, 虽然它不是任何总体参数的估计值, 但仍然希望它的不确定性在一定程度上得到报告. 最好是能对 P 值的可变性进行一些度量. 然而, 应该记住的一点是, 检验两个总体之间差异的能力完全取决于检验功效. 检验功效是未知的, 并且受到多种因素的影响, 包括 P 值(α)、效果的大小、样本容量

和方差: $Power = Probability\left(Z > z_{\alpha} - \frac{\mu_1 - \mu_0}{\sigma} \sqrt{n}\right)$.

使用MMI预测误差法可能是评价哪个MMI表现更好的一个替代方法. 其思路来自于监督式机器学习(supervised machine learning), 即首先将原始数据集分为训练集和验证集, 然后比较模型的预测能力. 对于像美国环境保护局的NLA或NRSA等项目的大数据集, 可以从每个生态区(或藻类物种组成组)随机选取80%的溪流或湖泊来构建MMI. 然后, 可以用每个MMI预测其余20%验证点的MMI得分, 并估计每个MMI的预测误差. 因为它模拟了MMI的实际应用, 这可能是对每个MMI的最终测试, 因此MMI的预测误差可能比 P 值更具信息量和易于解释.

2.3 多重比较的问题

多重检验(也称为多重性)的问题是指, 即使所有的零假设事实上都是真的, 当进行几个统计检验时, 有些检验的 P 值会偶然性地小于指定的 α . 例如, Liu等人^[14]的实验采用Wilcoxon符号秩检验的结果来评价不同样点组中MMI的表现. 因为单尾Wilcoxon符号秩检验重复了四次(对MMI的每个表现都有一次), 有些研

究人员可能会认为多次检验会潜在地夸大统计学显著性检验中的 I 型错误概率(通常为5%), 并产生虚假的显著性结果, 特别是在样本量较小的情况下。

Bonferroni校正(或Scheffe's)调整是事后检验的一种, 以防止夸大 I 型错误或校正多个检验的显著性水平。在生态评价领域, 由于只对有限的几个MMI的表现比较感兴趣, 而且它们之间不是正交的, 因此一些研究者建议用Bonferroni校正(或Scheffe's调整)来解决多重比较中的问题。然而, Bonferroni校正假设所有假设检验在统计上都是独立的, 这几乎肯定是错误的。如果两个检验在某些方面有共同之处(例如, 它们会受到某些相同的地质或水文地貌因子的影响), 那么就会有一定程度的依赖性。如果至少犯一个 I 类错误的概率低于Bonferroni校正的假设, 那么Bonferroni校正将是一个过度修正(降低了检验效能)。换句话说, Bonferroni校正是一种高度保守的方法, 它可以降低假阳性率, 但也会极大地增加假阴性率。

本文并没有说Bonferroni校正不是一个好的选择, 因为在统计学领域还没有找到能成功解决多重比较问题的最佳途径, 这很大程度上取决于最终的MMIs数量和其他诸多因素(表4)。进行两组之间的多变量比较, 例如使用多元方差分析(multivariate ANOVA)或判别函数分析(discriminant function analysis), 可能是避免过度校正问题的一种方法。上述多变量方法在控制相关问题检测差异, 而且并不需要假定假设的独立性。这可能是确定组间存在一些偶然差异的一个很好的方法($P<0.05$)。一旦完成了这些工作, 就可以用事后检验, 甚至可能用 t 检验来细化差异。当处理数百个具有相关性的对比时, 错误发现率可以作为控制多项 I 型错误率的一种备选方案^[66]。

3 总结与展望

近年来, 各国研究人员尤其是欧美科学家在利用微藻提高淡水生态系统生物学状态评价的准确性方面

表 4 比较MMI的数量与使用的部分事后检验产生的实验性 I 型误差率汇总^{a)}

Table 4 Experiment-wise type I error rate for some multiple comparison tests corresponding to the number of final MMIs^{a)}

最终MMI 数量	Unprotected LSD	Duncan's MRT	Protected LSD, Tukey's, Scheffe, Bonferroni, SNK
2	0.05	≤ 0.05	≤ 0.05
5	0.29	0.18	≤ 0.05
10	0.63	0.37	≤ 0.05
15	0.83	0.51	≤ 0.05

a) Unprotected LSD(least significant difference)表示Fisher的未受保护的最小显著差数检验, Protected LSD表示Fisher的受保护的最小显著差数检验。Duncan's MRT(multiple range test)表示Duncan多范围检验。SNK表示Student-Newman-Keuls检验。数据来源于本团队的多重比较结果及与密歇根州立大学Robert Tempelman博士的个人沟通

取得了许多进展。与欧盟同行不同, 美国的研究人员不断尝试构建新的MMI, 其主要方法是按生态区/藻类物种组成进行样点分组, 利用先进的多变量统计学技术模拟藻类量度指标和在不同样点分组中采用不同的量度指标。到目前为止, 研究人员达成的共识是: (i) 对样点进行特异性建模的方法可以提高MMI的表现; (ii) 在中高人类干扰水平下, 融入软藻(尤其是蓝藻)量度指标可以提高评价的准确度; (iii) 基于硅藻物种组成或混合类型的样点分组和在不同样点组中使用不同量度指标方法的效果尚不能确定。

研究人员在取得诸多进展的同时, 也发现了许多亟需解决的问题。需要更多的研究来厘清湖泊和溪流中微藻提高生物状态评价精度的不确定性因素, 例如, (i) 上述各方法分别能解释溪流或湖泊中自然变异的程度; (ii) 环境因子影响河流和湖泊中藻类物种组成形成机制的异同; (iii) 在淡水生态系统中, 硅藻量度指标所代表的生物学状态沿人类干扰梯度的占比情况等。同时, 当在充分利用现代统计学技术带来便利时, 研究人员还需要认识到这些技术可能带来的问题, 并尽最大努力得出强大而可靠的结果。

致谢 密歇根州立大学R. Jan Stevenson博士的反馈意见对提高本稿件的质量不无裨益, 在此表示感谢。

参考文献

1 Karr J R, Dudley D R. Ecological perspective on water quality goals. *Environ Manage*, 1981, 5: 55-68

- 2 Davies S P, Jackson S K. The biological condition gradient: a descriptive model for interpreting change in aquatic ecosystems. *Ecol Appl*, 2006, 16: 1251–1266
- 3 Hughes R M. Ecological integrity: conceptual foundations and applications. In: Wohl E, ed. *Oxford Bibliographies in Environmental Science*. New York: Oxford University Press, 2019
- 4 dos Santos F B, Esteves K E. A fish-based index of biotic integrity for the assessment of streams located in a sugarcane-dominated landscape in southeastern Brazil. *Environ Manag*, 2015, 56: 532–548
- 5 Gonino G, Benedito E, Cioneck V M, et al. A fish-based index of biotic integrity for neotropical rainforest sandy soil streams—Southern Brazil. *Water*, 2020, 12: 1215
- 6 Lau J K, Lauer T E. Nationwide benthic macroinvertebrate assemblage multimetric indices: identifying inconsistencies and limitations in reporting stream impairment status, USA. *Environ Manag*, 2015, 56: 11–23
- 7 Silva D R O, Herlihy A T, Hughes R M, et al. Assessing the extent and relative risk of aquatic stressors on stream macroinvertebrate assemblages in the neotropical savanna. *Sci Total Environ*, 2018, 633: 179–188
- 8 Shull D R, Smith Z M, Selckmann G M. Development of a benthic macroinvertebrate multimetric index for large semiwadeable rivers in the mid-Atlantic region of the USA. *Environ Monit Assess*, 2019, 191: 22
- 9 Feio M J, Aguiar F C, Almeida S F P, et al. Aquaflores: a predictive model based on diatoms and macrophytes for streams water quality assessment. *Ecol Indic*, 2012, 18: 586–598
- 10 Noordhuis R, van Zuidam B G, Peeters E T H M, et al. Further improvements in water quality of the Dutch Borderlakes: two types of clear states at different nutrient levels. *Aquat Ecol*, 2016, 50: 521–539
- 11 Moges A, Beyene A, Kelbessa E, et al. Development of a multimetric plant-based index of biotic integrity for assessing the ecological state of forested, urban and agricultural natural wetlands of Jimma Highlands, Ethiopia. *Ecol Indic*, 2016, 71: 208–217
- 12 Cao Y, Hawkins C P, Olson J, et al. Modeling natural environmental gradients improves the accuracy and precision of diatom-based indicators. *J N Am Benthol Soc*, 2007, 26: 566–585
- 13 Fetscher A E, Stancheva R, Kociolek J P, et al. Development and comparison of stream indices of biotic integrity using diatoms vs. non-diatom algae vs. a combination. *J Appl Phycol*, 2014, 26: 433–450
- 14 Liu B, Chen S, Liu H, et al. Blue-green algae enhanced performance of diatom-based multimetric index on defining lake condition under high level of human disturbance. *Sci Total Environ*, 2020, 730: 138846
- 15 Hering D, Johnson R K, Kramm S, et al. Assessment of European streams with diatoms, macrophytes, macroinvertebrates and fish: a comparative metric-based analysis of organism response to stress. *Freshwater Biol*, 2006, 51: 1757–1785
- 16 Beck M W, Hatch L K. A review of research on the development of lake indices of biotic integrity. *Environ Rev*, 2009, 17: 21–44
- 17 Stevenson R J, Zalack J T, Wolin J. A multimetric index of lake diatom condition based on surface-sediment assemblages. *Freshw Sci*, 2013, 32: 1005–1025
- 18 Whittier T R, Hughes R M, Stoddard J L, et al. A structured approach for developing indices of biotic integrity: three examples from streams and rivers in the western USA. *Trans Am Fish Soc*, 2007, 136: 718–735
- 19 Cantonati M, Lowe R L. Lake benthic algae: toward an understanding of their ecology. *Freshw Sci*, 2014, 33: 475–486
- 20 Kelly M G, Birk S, Willby N J, et al. Redundancy in the ecological assessment of lakes: are phytoplankton, macrophytes and phytobenthos all necessary? *Sci Total Environ*, 2016, 568: 594–602
- 21 Liu B, Stevenson R J. Improving assessment accuracy for lake biological condition by classifying lakes with diatom typology, varying metrics and modeling multimetric indices. *Sci Total Environ*, 2017, 609: 263–271
- 22 Hausmann S, Charles D F, Gerritsen J, et al. A diatom-based biological condition gradient (BCG) approach for assessing impairment and developing nutrient criteria for streams. *Sci Total Environ*, 2016, 562: 914–927
- 23 Liu B, Cao S. Comment: averaging statistics of multimetric index leading to an inaccurate evaluation on methods of defining biological condition of streams/rivers in ecological assessment. *Sci Total Environ*, 2019, 649: 1640–1642
- 24 Stevenson R J, Tang T, Infante D M. Advancing evaluation of bioassessment methods: a reply to Liu and Cao. *Sci Total Environ*, 2018, 645: 895–900
- 25 Tang T, Stevenson R J, Infante D M. Accounting for regional variation in both natural environment and human disturbance to improve performance of multimetric indices of lotic benthic diatoms. *Sci Total Environ*, 2016, 568: 1124–1134

- 26 Tang T, Stevenson R J, Grace J B. The importance of natural versus human factors for ecological conditions of streams and rivers. *Sci Total Environ*, 2020, 704: 135268
- 27 Cao Y, Hawkins C P. The comparability of bioassessments: a review of conceptual and methodological issues. *J N Am Benthol Soc*, 2011, 30: 680–701
- 28 Poikane S, Kelly M, Cantonati M. Benthic algal assessment of ecological status in European lakes and rivers: challenges and opportunities. *Sci Total Environ*, 2016, 568: 603–613
- 29 Charles D F, Kelly M G, Stevenson R J, et al. Benthic algae assessments in the EU and the US: striving for consistency in the face of great ecological diversity. *Ecol Indic*, 2021, 121: 107082
- 30 Karr J R. Assessment of biotic integrity using fish communities. *Fisheries*, 1981, 6: 21–27
- 31 Riato L, Leira M, Della Bella V, et al. Development of a diatom-based multimetric index for acid mine drainage impacted depressional wetlands. *Sci Total Environ*, 2018, 612: 214–222
- 32 USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). Wadeable streams assessment: a collaborative survey of the nation's streams. EPA 841-B-06-002. Washington: U.S. Environmental Protection Agency, 2006
- 33 Karr J R, Chu E W. Restoring Life in Running Waters: Better Biological Monitoring. Washington: Island Press, 1999. 206
- 34 Norris R H, Hawkins C P. Monitoring river health. *Hydrobiologia*, 2000, 435: 5–17
- 35 Paul M J, Jessup B, Brown L R, et al. Characterizing benthic macroinvertebrate and algal biological condition gradient models for California wadeable streams, USA. *Ecol Indic*, 2020, 117: 106618
- 36 González-Paz L, Delgado C, Pardo I. Understanding divergences between ecological status classification systems based on diatoms. *Sci Total Environ*, 2020, 734: 139418
- 37 Karr J R. Defining and measuring river health. *Freshw Biol*, 1999, 41: 221–234
- 38 Miller K M, Mitchell B R, McGill B J. Constructing multimetric indices and testing ability of landscape metrics to assess condition of freshwater wetlands in the Northeastern US. *Ecol Indic*, 2016, 66: 143–152
- 39 Schoolmaster D R, Grace J B, Schweiger E W, et al. An algorithmic and information-theoretic approach to multimetric index construction. *Ecol Indic*, 2013, 26: 14–23
- 40 Bourdagh M, Johnston C A, Regal R R. Properties and performance of the Floristic Quality Index in great lakes coastal wetlands. *Wetlands*, 2006, 26: 718–735
- 41 Blocksom K A. A performance comparison of metric scoring methods for a multimetric index for mid-Atlantic highlands streams. *Environ Manage*, 2003, 31: 670–682
- 42 Stevenson R J, Hauer F R. Integrating hydrogeomorphic and index of biotic integrity approaches for environmental assessment of wetlands. *J N Am Benthol Soc*, 2002, 21: 502–513
- 43 Hawkins C P, Cao Y, Roper B. Method of predicting reference condition biota affects the performance and interpretation of ecological indices. *Freshw Biol*, 2010, 55: 1066–1085
- 44 Suter Ii G W. A critique of ecosystem health concepts and indexes. *Environ Toxicol Chem*, 1993, 12: 1533–1539
- 45 Stoddard J L, Herlihy A T, Peck D V, et al. A process for creating multimetric indices for large-scale aquatic surveys. *J N Am Benthol Soc*, 2008, 27: 878–891
- 46 Hawkins C P, Olson J R, Hill R A. The reference condition: predicting benchmarks for ecological and water-quality assessments. *J N Am Benthol Soc*, 2010, 29: 312–343
- 47 Stoddard J L, Larsen D P, Hawkins C P, et al. Setting expectations for the ecological condition of streams: the concept of reference condition. *Ecol Appl*, 2006, 16: 1267–1276
- 48 Vander Laan J J, Hawkins C P. Enhancing the performance and interpretation of freshwater biological indices: an application in arid zone streams. *Ecol Indic*, 2014, 36: 470–482
- 49 USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). National lakes assessment: a collaborative survey of the nation's lakes. EPA-841-R-09-001. Washington: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water and Office of Research and Development, 2009
- 50 USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). 2008–2009 National Rivers and Streams Assessment draft technical report. EPA/841/R-16/008. Washington: U.S. Environmental Protection Agency, 2013
- 51 Liu B, Chen S, Liu H, et al. Modeling cyanobacteria biomass by surface sediment diatoms in lakes: problems and suggestions. *Ecol Model*, 2020,

430: 109056

- 52 Theroux S, Mazor R D, Beck M W, et al. Predictive biological indices for algae populations in diverse stream environments. *Ecol Indic*, 2020, 119: 106421
- 53 Soranno P A, Cheruvilil K S, Wagner T, et al. Effects of land use on lake nutrients: the importance of scale, hydrologic connectivity, and region. *PLoS ONE*, 2015, 10: e0135454
- 54 Elith J, Leathwick J R, Hastie T. A working guide to boosted regression trees. *J Anim Ecol*, 2008, 77: 802–813
- 55 Giri S, Zhang Z, Krasnuk D, et al. Evaluating the impact of land uses on stream integrity using machine learning algorithms. *Sci Total Environ*, 2019, 696: 133858
- 56 Shabani F, Kumar L, Solhjoui-fard S. Variances in the projections, resulting from CLIMEX, boosted regression trees and random forests techniques. *Theor Appl Climatol*, 2017, 129: 801–814
- 57 Park S, Kim J. Landslide susceptibility mapping based on random forest and boosted regression tree models, and a comparison of their performance. *Appl Sci*, 2019, 9: 942
- 58 Stevenson J. Ecological assessments with algae: a review and synthesis. *J Phycol*, 2014, 50: 437–461
- 59 Liu B, McLean C E, Long D T, et al. Eutrophication and recovery of a Lake inferred from sedimentary diatoms originating from different habitats. *Sci Total Environ*, 2018, 628-629: 1352–1361
- 60 Read E K, Patil V P, Oliver S K, et al. The importance of lake-specific characteristics for water quality across the continental United States. *Ecol Appl*, 2015, 25: 943–955
- 61 Pillsbury R, Stevenson R J, Munn M D, et al. Relationships between diatom metrics based on species nutrient traits and agricultural land use. *Environ Monit Assess*, 2019, 191: 228
- 62 Alvarez M C, Franco A, Pérez-Domínguez R, et al. Sensitivity analysis to explore responsiveness and dynamic range of multi-metric fish-based indices for assessing the ecological status of estuaries and lagoons. *Hydrobiologia*, 2013, 704: 347–362
- 63 Drouineau H, Lobry J, Delpech C, et al. A Bayesian framework to objectively combine metrics when developing stressor specific multimetric indicator. *Ecol Indic*, 2012, 13: 314–321
- 64 Amrhein V, Greenland S, McShane B. Scientists rise up against statistical significance. *Nature*, 2019, 567: 305–307
- 65 McShane B B, Gal D, Gelman A, et al. Abandon statistical significance. *Am Stat*, 2019, 73: 235–245
- 66 Benjamini Y, Krieger A M, Yekutieli D. Adaptive linear step-up procedures that control the false discovery rate. *Biometrika*, 2006, 93: 491–507

Improving biological condition assessment accuracy by multimetric index approach with microalgae in streams and lakes

LI DanMin^{1,2}, LIU Bo^{1,2,3}, CHEN Shuo^{1,2} & GUAN YueQiang^{1,2}

1 School of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China;

2 Institute of Life Sciences and Green Development, Hebei University, Baoding 071002, China;

3 Department of Integrative Biology, Michigan State University, East Lansing, MI 48824, USA

The multimetric index (MMI) approach is broadly used in ecological assessment because it integrates information of various ecologically related metrics of freshwater ecosystems and provides an easily understandable score for further evaluation and management. Accounting for natural variation and disentangling covariation between natural environmental and human disturbance factors is imperative for an accurate assessment. *A priori* classification of sites by regions or typologies, site-specific modeling of expected reference conditions, and varying metrics in site groups are three approaches that have been used to control natural variation in ecological assessments. Researchers have recently made a lot of progress in improving biological condition assessment accuracy by the MMI approach with microalgae in streams and lakes. All existing studies support that site-specific modeling can efficiently account for natural variation and generate an MMI with good performance. However, no strong evidence has shown that diatom/blue-algae typologies are better than regionalization frameworks in accounting for natural variation in lakes or streams. Separating the natural variation explained by site-specific modeling from that of varying metrics is necessary for a thorough and accurate evaluation of the valuableness of site-grouping by typologies. The different performances of varying metrics among site groups of streams and lakes are most probably caused by the lack of representativeness of diatom metrics on biological conditions rather than the complex multi-stressor gradients in streams and rivers. This study reviewed recent progress in defining the ecological condition of lakes and streams by the MMI approach with microalgae and some concerns in using statistical techniques to compare MMI performance.

ecological assessment, multimetric index, microalgae, biological condition, National Lake Assessment, National Rivers and Streams Assessment

doi: [10.1360/SSV-2021-0236](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0236)