Veldtoets met watervlooien: een nuttige aanvulling op het chemisch onderzoek

Samenvatting

Bij het onderzoek naar de invloed van toxische stoffen in het oppervlaktewater voert het hoogheemraadschap van Delfland sinds 1990 veldtoetsen met watervlooien uit. Daarbij worden watervlooien een week lang blootgesteld aan het water in een sloot of plas. De toets is goed bruikbaar voor het aantonen van het toxisch effect van vooral organofosfor-bestrijdingsmiddelen in het water.

In glastuinbouwgebieden zoals het Westland is het oppervlaktewater sterk verontreinigd, onder andere met meststoffen en bestrijdingsmiddelen. Het is praktisch onmogelijk om alle stoffen te analyseren. Onderzoek met een toetsorganisme, dat aan alle stoffen blootstaat, blijkt een nuttige aanvulling te zijn.

De toetsen tonen aan dat het oppervlaktewater in glastuinbouwgebieden in Delfland vaak toxisch is voor watervlooien. In sommige sloten overleeft nooit één watervlo de toets, terwijl de sterfte op referentiepunten gering is. De sterfte is vrijwel steeds te verklaren door acuut toxische concentraties aan bestrijdingsmiddelen.

Het effect van de toxische stoffen op het van nature aanwezige zoöplankton is nog onvoldoende onderzocht. Oriënterend onderzoek wijst er echter op dat in glastuinbouwgebieden maar weinig watervlooien voorkomen. Ook de macrofaunagemeenschap is vaak ernstig verstoord en bestaat dan alleen nog uit enkele weinig kwetsbare soorten. De gehalten aan toxische stoffen zullen sterk moeten dalen voordat verbetering kan optreden.

Waarom een watervlooientoets?

In het beheergebied van het Hoogheemraadschap van Delfland liggen grote concentraties van glastuinbouwbedrijven, onder andere in het Westland (afb. 1). Onderzoek van het hoogheemraadschap heeft uitgewezen dat het oppervlaktewater in glastuinbouwgebieden vaak sterk verontreinigd is met meststoffen en bestrijdingsmiddelen, met grote gevolgen voor het leven in het water.

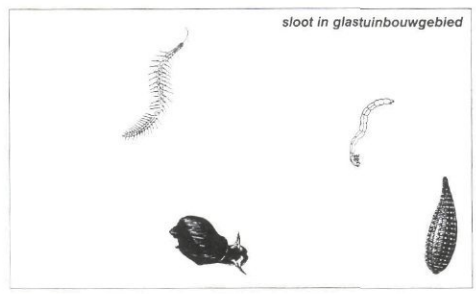
In glastuinbouwgebieden in Delfland is de watervegetatie normaal ontwikkeld. Vaak ontbreekt een groot deel van de voor kleine wateren karakteristieke fauna echter, zoals watermijten, kreeftachtigen en de meeste insekten. Dezelfde groepen komen buiten het glastuinbouwgebied algemeen voor, zelfs in zeer voedselrijk water (afb. 2). Groepen die wel worden aangetroffen zijn wormen, bloedzuigers en slakken, en bepaalde muggelarven. Deze weinig kwetsbare groepen komen soms in zeer hoge aantallen voor, vanwege verminderde concurrentie en predatiedruk [1, 2].

M. GORTER
Hoogheemraadschap van Delfland

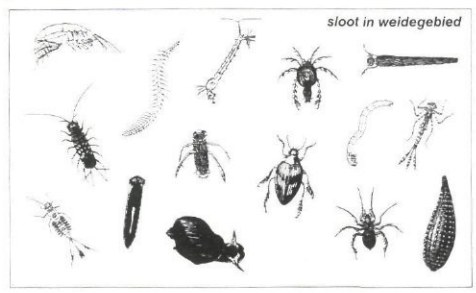
B. VAN DER WAL
Hoogheemraadschap van Delfland

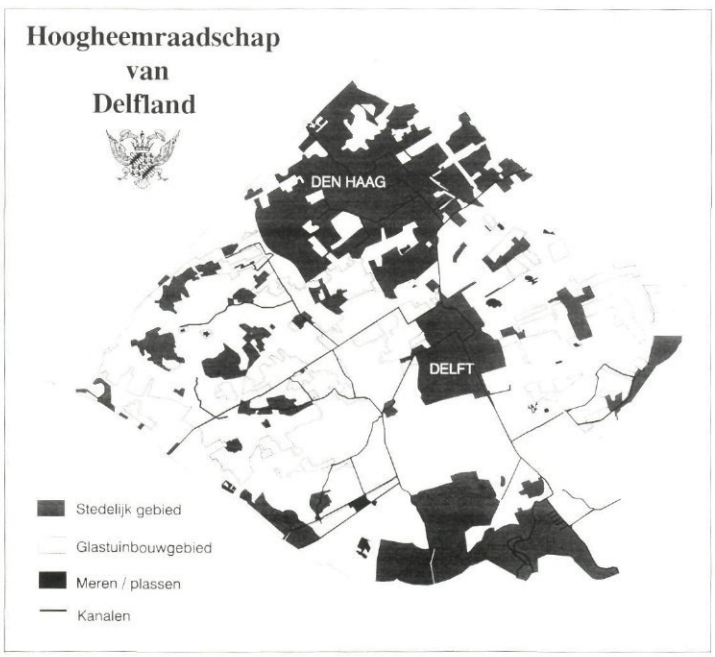
J. MANGELAARS
Hoogheemraadschap van Delfland

Het meten van alle potentieel toxische verbindingen is praktisch onmogelijk. Onderzoek naar de hele levensgemeenschap (of alleen de macrofauna) is erg arbeidsintensief. Daarom heeft Delfland gekozen voor het gebruik van een toetsorganisme, dat aan *alle* stoffen in het water blootstaat: de watervlo *Daphnia magna*. Uit literatuur blijkt dat watervlooien erg gevoelig zijn voor toxische stoffen, en bovendien goed zijn te kweken. Van veel stoffen zijn de concentraties bekend waarbij effect op groei, gedrag of vermenigvuldiging bij watervlooien optreedt. Waterkwaliteitsnormen, zoals de grenswaarden uit de Evaluatienota Water [3], zijn onder andere opgesteld aan de hand van dergelijk onderzoek bij diverse organismen.



Afb. 2 - Schematische weergave van de macrofauna in sloten in het glastuinbouwgebied en in het veenweidegebied.

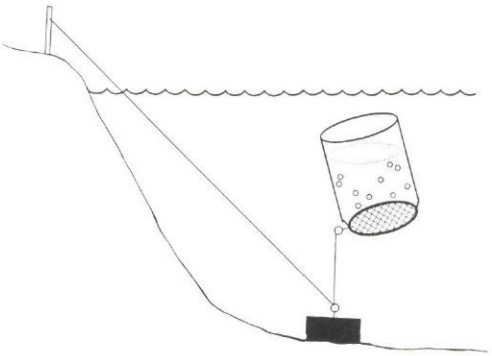




Afb. 1 - Het beheergebied van het Hoogheemraadschap van Delfland.

Delfland heeft gekozen voor watervlooientoetsen 'in het veld'. De watervlooien worden gedurende een week aan het oppervlaktewater op de lokatie blootgesteld. Daarin kan de samenstelling van het water door lozingen veranderen. Na

een week wordt gekeken naar de overleving. De methode is overgenomen van het DLO-Staringcentrum [4]. Een glazen pot met gaasdeksel wordt voor 2/3 gevuld met water van het monsterpunt.
Er worden tien watervlooien in uitgezet en de pot wordt in het water gehangen. Door de luchtbel blijft de pot drijven en is een voldoende zuurstofgehalte gegarandeerd [5].



Afb. 3 - Schematische weergave van de proefopstelling.

Sinds juni 1990 voert Delfland de watervlooientoets zes maal per jaar uit. Bij de resultaten wordt onderscheid gemaakt tussen wateren in glastuinbouwgebieden en referentiewateren. Glastuinbouwpunten liggen nabij kassen, en staan onder invloed van lozingen en afstromend water. De referentiepunten liggen buiten de directe invloed van de glastuinbouw. In dit artikel gaat het om veertien glastuinbouwpunten en vijf referentiepunten in sloten, kanalen en plassen.

Bestrijdingsmiddelenonderzoek
Watervlooien zijn volgens literatuurgegevens vooral gevoelig voor bestrijdingsmiddelen uit de organo*fosfor*-groep. In tabel I zijn de gehalten van de voor Delfland belangrijkste stoffen (1993) en de grenswaarden uit de Evaluatienota Water opgenomen.

Deze grenswaarden worden in glastuinbouwgebieden in Delfland veelvuldig overschreden. Bij *Dichloorvos* en *Parathion* lopen de overschrijdingen in sommige watergangen op tot respectievelijk 10.000 maal en 5.000 maal de grenswaarde.
Over een langere termijn is binnen Delfland een daling opgetreden in de somparameter cholinesteraseremming. Dit is een indicator voor het effect van onder andere organofosfor-bestrijdingsmiddelen op de werking van het zenuwstelsel van mens en dier. De gehalten van de belangrijkste afzonderlijke stoffen zijn echter nauwelijks gedaald.
Ook in de referentiewateren worden soms bestrijdingsmiddelen gevonden. Bron hiervan is waarschijnlijk meestal de neerslag. Onderzoek van de provincie Zuid-Holland en Delfland heeft aangetoond dat regenwater bestrijdingsmiddelen bevat. Deze komen door verdamping en verneveling tijdens het gebruik in de lucht terecht [6].

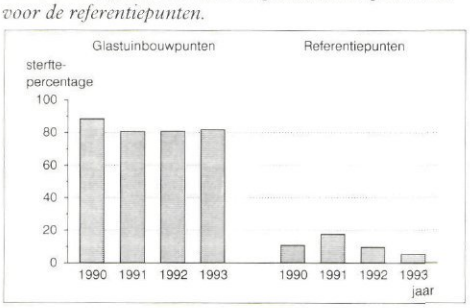
TABEL I - *De belangrijkste van de in 1993 in Delflands oppervlaktewater aangetroffen bestrijdingsmiddelen.*

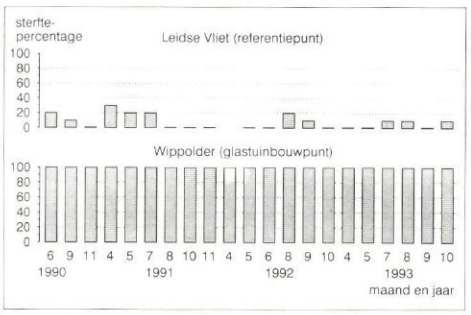
		Gehalten in Delfland 1993[1]		Grenswaarde Evaluatienota water	Toxiciteit voor Daphnia		
		referentie-gebied	glastuinbouw-gebied		waarde	type	bron[2]
organochloor-bestrijdingsmiddelen							
b-HCH	ng/l	12	19	–	320.000	NOEC	10
g-HCH (lindaan)	ng/l	9	25	10	520.000	EC50	11
a-Endosulfan	ng/l	1	15	–	52.900	LC50	11
b-Endosulfan	ng/l	2	17	–	52.900	LC50	11
som a-Endosulfan + endosulfansulfaat	ng/l	7	60	10	–	–	–
Dichlobenil	ng/l	26	68	–	3.700.000	EC50	10
Vinclozolin	ng/l	13	56	–	4.000.000	LC50	10
Iprodion	ng/l	15	19	–	–	–	–
Procymidon	ng/l	< 10	52	–	–	–	–
organofosfor-bestrijdingsmiddelen							
Chlorfenvinfos	ng/l	< 10	20	–	100	EC50	12
Diazinon	ng/l	< 10	200	30	522	LC50	12
Dichloorvos	ng/l	< 10	1.400	2	66	EC50	12
Heptenofos	ng/l	< 10	260	–	2.000	EC50	10
Methylazinfos	ng/l	< 10	50	20	1.600	EC50	13
Methylparathion	ng/l	< 10	20	200	4.000	EC50	13
Mevinfos	ng/l	< 10	20	5	160	LC50	12
Parathion (ethyl)	ng/l	< 10	865	5	28	LC50	12
Toclofosmethyl	ng/l	20	1.100	–	19.900.000	EC50	11
Triazofos	ng/l	10	30	30	3.000	LC50	11
Primifosmethyl	ng/l	< 10	51	–	–	–	–
Pyrazofos	ng/l	< 10	91	3	180	EC50	11
Cholinesteraseremming (als μg/l Paraoxon)		0,6	5,2	0,5	–	–	–

[1] 90-percentielwaarden van alle metingen.
[2] bron: zie literatuurlijst.

Het resultaat van de toetsen
In sommige glastuinbouwwateren heeft nooit één watervlo de toets overleefd, in andere variëren de resultaten tussen 0 en 100% sterfte. In de referentiewateren is de sterfte van de watervlooien meestal tussen de 0 en 20%.
De gemiddelde sterfte is weergegeven in afbeelding 4. In de jaren 1990-1993 is geen verbetering geconstateerd. In afbeelding 5 zijn voorbeelden te zien van de volledige reeks resultaten op een punt. Het is gebruikelijk dat er in proeven met levende organismen enige sterfte optreedt. De resultaten in de referentiewateren kunnen als achtergrondwaarden worden gezien.

Afb. 4 - Het resultaat van de watervlooientoetsen in 1990-1993, gemiddeld voor de glastuinbouwpunten en voor de referentiepunten.





Afb. 5 - Voorbeelden van de resultaten van de toets op een referentiepunt en op een glastuinbouwpunt.

Wat veroorzaakt de sterfte van de watervlooien?
De massale sterfte van watervlooien in de toetsen kan theoretisch veel oorzaken hebben. Dat bestrijdingsmiddelen hiervoor in hoofdzaak verantwoordelijk zijn blijkt uit het volgende.

Zuurstof- of voedselgebrek zijn als doodsoorzaak nagenoeg uit te sluiten. Door de luchtbel in de pot blijft het zuurstofgehalte op peil. Bovendien verdraagt *Daphnia magna* lage zuurstofgehalten. In het voedselarme water van enkele referentieplassen blijven de vlooien vrijwel altijd in leven. Wat overblijft als oorzaak is de toxiciteit van het water.

De voor watervlooien toxische concentraties zijn van veel stoffen bekend

(tabel I). Deze zijn door diverse instanties vastgesteld tijdens laboratoriumproeven. Toxische waarden treft men meestal aan als LC50 of EC50. Dit zijn de laagst gemeten concentraties, waarbij respectievelijk 50% van de toetsorganismen acuut sterft of effect vertoont. Dit effect is bij watervlooien meestal immobiliteit. Omdat in laboratoriumproeven gebleken is dat immobiliteit na enkele dagen altijd leidt tot sterfte, zijn in de tabel zowel LC50- als EC50-waarden opgenomen. Soms betreft het waarden voor *Daphnia pulex;* aangenomen is dat waarden voor *Daphnia magna* vergelijkbaar zijn.

Bestrijdingsmiddelen zijn te verdelen in stikstofhoudende bestrijdingsmiddelen, stikstof-methyl-carbamaten, pyrethroiden, organochloor- en organofosforbestrijdingsmiddelen. De laatste twee groepen vormen binnen Delfland het grootste probleem.
Pyrethroiden zijn enkele malen aangetoond in een toxische concentratie. Organo*chloor*-bestrijdingsmiddelen worden in Delfland bijna nooit aangetroffen in voor watervlooien toxische concentraties. Dat wil niet zeggen dat ze geen probleem vormen: vissen zijn bijvoorbeeld erg gevoelig voor de inmiddels verboden stof *Endosulfan.* Veel vissterften binnen Delfland zijn het gevolg geweest van lozing van deze stof.

De organo*fosfor*-bestrijdingsmiddelen spelen wel een belangrijke rol. Uit tabel I blijkt dat de concentraties van *Parathion* en *Dichloorvos* vaak ver boven de voor watervlooien toxische waarden liggen. Andere belangrijke stoffen uit dezelfde chemische groep zijn onder andere *Chloorfenvinfos, Diazinon, Heptenofos* en *Pyrazofos.*

Andere toxische stoffen waaraan men bij Delflands oppervlaktewater kan denken zijn PAK's en zware metalen. Aan PAK's zijn geen voor watervlooien toxische concentraties geconstateerd. Zink speelt mogelijk wel een rol. De grenswaarde van 30 μg/l zink wordt veelvuldig overschreden. De literatuurgegevens over de toxiciteit van zink zijn echter niet eenduidig. Zink komt in het oppervlaktewater door afspoeling van daken, goten, kassen, straatmeubilair, bruggen e.d. [7]. Koper, chroom en cadmium zijn slechts incidenteel in voor watervlooien toxische concentraties aangetroffen.

In veel gevallen zullen er verscheidene toxische stoffen tegelijk in het water aanwezig zijn. Wanneer ze een verschillende werking hebben, kunnen ze elkaars effect mogelijk versterken. Dit zou bijvoorbeeld kunnen gelden voor zink en bestrijdingsmiddelen.
Stoffen die geen *acuut* effect veroorzaken, kunnen wel een *chronisch* effect hebben. Combinaties van giftige stoffen en factoren als voedselgebrek kunnen bij elkaar leiden tot een verslechterde conditie van de watervlooien ('stress').

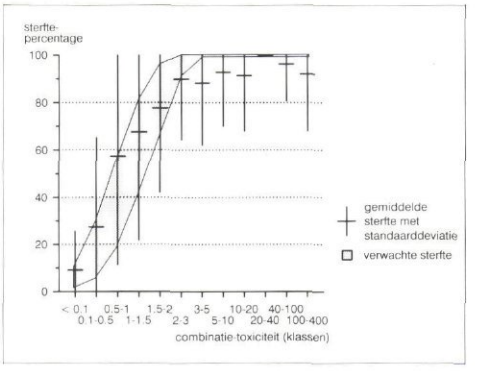
Relatie tussen organofosforbestrijdingsmiddelen en sterfte van de watervlooien
De overschrijdingen van de toxische waarden zijn bij *organofosfor*-bestrijdingsmiddelen verreweg het grootst. Om de sterfte in de watervlooientoetsen te verklaren is daarom gekeken of er een duidelijk verband is tussen de sterftepercentages en de gehalten aan deze middelen.
In totaal zijn 269 toetsen gebruikt uit de jaren 1990-1993. In 172 daarvan was sprake van 50% of meer sterfte. Meestal zijn de watervlooientoets en de monstername voor chemisch onderzoek niet in dezelfde week uitgevoerd. In dat geval is het gemiddelde gehalte genomen uit de maandelijkse meting vóór en na de toets.

Met de toxische waarde voor *Parathion* uit tabel I kunnen alleen al 72% van de sterftewaarnemingen worden verklaard. *Parathion* is niet altijd de enige boosdoener; vaak zijn gelijktijdig verscheidene toxische stoffen aanwezig. Van de resterende toetsen met hoge sterfte is de helft door *Dichloorvos* te verklaren. Er blijft dan nog 14% van de toetsen met hoge sterfte over, waarvoor de oorzaak meestal kan worden gezocht bij *Pyrazofos, Chloorfenvinfos, Heptenofos* of *Diazinon.*

Een andere benadering is het berekenen van de 'combinatie-toxiciteit' van stoffen. Daarbij wordt er vanuit gegaan dat stoffen uit dezelfde chemische groep eenzelfde soort effect hebben en dat dit effect te sommeren is. Dit geldt bijvoorbeeld voor alle organofosfor-bestrijdingsmiddelen met een cholinesteraseremmende werking. De combinatie-toxiciteit is berekend met de toxische waarden van de afzonderlijke stoffen, volgens de formule (naar [8]):

$$\text{Combinatie-toxiciteit} = \Sigma \frac{\text{(gemeten concentratie stof X)}}{\text{(toxische concentratie stof X)}}$$

Hoe hoger de waarde, hoe giftiger het water. Bij de waarde 1 zou de sterfte 50% moeten zijn (omdat gewerkt is met EC-50 of LC-50-waarden).
De combinatie-toxiciteit is berekend voor de stoffen *Dichloorvos, Parathion, Pyrazofos, Chloorfenvinfos, Heptenofos* en *Diazinon.* In afbeelding 6 is het resultaat te zien, met de gemiddelde sterfte per combinatie-toxiciteitsklasse en de standaarddeviatie.



Afb. 6 - Verband tussen de waargenomen sterfte van de watervlooien en de berekende combinatie-toxiciteit, gemiddeld per toxiciteitsklasse.

De sterfte loopt van ongeveer 10% bij een lage toxiciteitswaarde op tot ongeveer 100% bij een hoge combinatie-toxiciteit. Eerder is al opgemerkt dat een sterfte tot 20% in een 'blanco' onvermijdelijk is. Bij de combinatie-toxiciteitswaarde 1 ligt het gebied met de grootste spreiding, ongeveer rond de 50%.

Er is dus een duidelijk verband tussen gehalten (of combinatie-toxiciteit) en sterfte.
Een klein deel van de sterftewaarnemingen is niet te verklaren door gemeten organofosfor-bestrijdingsmiddelen. Mogelijke redenen zijn:
- de gehalten waren tijdens de toets hoger dan aangenomen, omdat de chemische bemonstering niet gelijktijdig viel met de watervlooientoets;
- de sterfte was (mede) het gevolg van een niet-geanalyseerd bestrijdingsmiddel;
- incidentele sterfte door een andere oorzaak (een andere stof of ongunstige omstandigheden).

Een paar maal komt het omgekeerde voor: een hoge berekende toxiciteit en toch geringe sterfte. Ook hiervoor is een mogelijke verklaring dat de chemische bemonstering niet gelijktijdig viel met de watervlooientoets (de gehalten waren tijdens de toets lager dan aangenomen).

Gevolgen voor de levensgemeenschap
Delfland heeft in 1991 een oriënterend onderzoek gedaan naar zoöplankton, op een aantal lokaties van de watervlooientoets. Uit de resultaten blijkt dat in glastuinbouwwateren weinig of geen watervlooien voorkomen, in elk geval minder dan in de referentiewateren. Roeipootkreeftjes *(Copepoda)* en raderdiertjes

(Rotatoria) lijken minder gevoelig te zijn voor bestrijdingsmiddelen. Raderdiertjes profiteren mogelijk zelfs van de verminderde voedselconcurrentie met watervlooien.

Het zoöplankton vormt een belangrijke schakel in een gezonde levensgemeenschap in het water. Een toxisch effect op watervlooien kan daarom indirect uitwerking hebben op vele andere organismen. Bovendien zijn de stoffen die sterfte onder watervlooien veroorzaken ook giftig voor veel andere dieren. Alle waterorganismen komen direct, of via het voedsel, in aanraking met deze stoffen. In het begin van dit artikel is al vermeld welke ernstige gevolgen dit heeft voor de macrofauna.

Evaluatie van de toets

Het uitvoeren van honderden watervlooientoetsen heeft aangetoond dat de toegepaste methode voldoet aan de verwachtingen. De massale sterfte van watervlooien in glastuinbouwgebieden is te verklaren door organofosforbestrijdingsmiddelen, waarvan *Parathion* en *Dichloorvos* de belangrijkste lijken te zijn. Van overige giftige stoffen zijn, voor zover bekend, alleen zink (regelmatig) en pyrethroiden (een enkele maal) aanwezig in concentraties rond de toxische waarden voor watervlooien.

Er is in de loop der jaren geen daling te zien in de sterfte in de watervlooientoetsen (afb. 4).
Binnen Delfland is er wel een dalende trend in de parameter cholinesteraseremming, een indicator voor het effect van onder andere organofosfor-bestrijdingsmiddelen. De cholinesteraseremming wordt echter bepaald met behulp van paardebloed. Het daarin gemeten effect blijkt niet relevant voor aquatische organismen zoals watervlooien [9].
De gehalten van individuele stoffen als *Parathion* en *Dichloorvos* zijn na 1990 iets afgenomen. De huidige gehalten liggen echter in glastuinbouwgebieden vaak nog ver boven de acuut toxische grenzen. De gehalten moeten sterk afnemen voordat een verbetering van de biologische toestand kan optreden. Zo'n verbetering kan snel worden geconstateerd door minder sterfte in de watervlooientoetsen.

De toets blijkt zeer illustratief te werken voor doelgroepen als bestuurders en glastuinbouworganisaties. Een toets met levende organismen maakt meer indruk dan een reeks chemische meetwaarden. Er is een direct effect zichtbaar van de overschrijding van de normen.

Literatuur

1. Werkgroep 'Effecten van bestrijdingsmiddelen uit de tuinbouw op de waterkwaliteit' (1988). *Invloed van tuinbouwactiviteiten op de waterkwaliteit in de polder Nieuwland en Noordland (Westland).* Hoogheemraadschap van Delfland, Delft.
2. Hoogheemraadschap van Delfland (1994). *Vervolgonderzoek Poelpolder 1993.* Delft.
3. *Evaluatienota Water* (1994). Staatsdrukkerij, Den Haag.
4. Zuiveringschap West-Overijssel (1990). *Bestrijdingsmiddelengebruik en oppervlaktewaterkwaliteit in een fruitteeltgebied in de Noordoostpolder.* Technologische Dienst, Zwolle.
5. Hoogheemraadschap van Delfland (1994). *Het water uitgevlooid. Toxiciteitstoetsen met watervlooien in het veld 1990-1993.* Delft.
6. Provincie Zuid-Holland, Dienst Water en Milieu (1994). *Bestrijdingsmiddelen in neerslag in Zuid-Holland.* Den Haag.
7. Coppoolse, J. e.a. (1993). *SPEED-document: Zware metalen in oppervlaktewateren, bronnen en maatregelen.* RIZA nota 93.012; RWS/RIZA, VROM/DGM, RIVM.
8. Stortelder, P. B. M. e.a. (1989). *Kansen voor waterorganismen, nota 89.016a* – DBW/RIZA, Lelystad.
9. Zalen, E. van en Hammers, W. E. (1991). *De cholinesteraseremmende activiteit van organofosforinsecticiden in oppervlaktewater; een evaluatie van de NEN 6526 methode.* H_2O (24), nr. 23, blz. 663-665.
10. Luttik, R. e.a. (1991). *Bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater van het Westland (1989/'90), rapport 711001007* – RIVM, Bilthoven.
11. Koten-Vermeulen, J. E. M. van en Canton, H. (1988). *Voorstellen voor (no) effectlevels van een aantal bestrijdingsmiddelen voor het aquatisch ecosysteem, rapport 747612001* – RIVM, Bilthoven.
12. Ordelman, H. G. K. e.a. (1994). *Watersysteemverkenningen 1996: Organofosforbestrijdingsmiddelen, nota 94.043* – RIZA, Lelystad.
13. Hendriks, A. J. (ed.) (1994). *Monitoring concentrations of microcontaminants and response of waterfleas and fish in the Rhine Delta, rapport 94.027* – RIZA, Lelystad

• • •

Symposium watersysteemverkenningen

Hoe staat het nu en in de toekomst met de kwaliteit en het gebruik van het water? Wat zijn de verwachte ontwikkelingen en mogelijkheden van het gebruik van de Nederlandse wateren? Welke maatregelen moeten nu en straks genomen worden?
In de Watersysteemverkenningen (WSV) is op een systematische wijze informatie over de toestand en het gebruik van de watersystemen ontwikkeld en gepresenteerd. Tevens zijn er analyses verricht naar de ecologische en economische effecten van het huidige beleid en zijn er mogelijke ontwikkelingen verkend. De resultaten van de Watersysteemverkenningen van Rijkswaterstaat zullen op een symposium op 13 november 1996 in het Congresgebouw in Den Haag worden gepresenteerd. Zowel het zoete als het zoute water krijgen ruime aandacht. Reacties uit de Nederlandse en internationale waterwereld zullen de inhoudelijke presentaties afwisselen.

De WSV werd aangekondigd in de Derde Nota Waterhuishouding. WSV bouwt voort op de hoofdlijnen van het integraal waterbeleid en beheer die zijn vastgelegd in de Derde Nota Waterhuishouding en in de Evaluatie Nota Water. Momenteel is de vraag actueel of, en zo ja in hoeverre, het wenselijk is die beleidslijnen aan te passen aan de nieuwe inzichten en gegevens.
De WSV levert daarvoor de technisch-wetenschappelijke informatie toe aan het proces naar de Vierde Nota Waterhuishouding.

Rijkswaterstaat (RIZA en RIKZ) organiseert dit symposium in samenwerking met de NVA en het KIVI. Het Hoofdrapport Watersysteemverkenningen met het informatiesysteem 'de Waterdialoog' zal worden aangeboden aan de minister van Verkeer en Waterstaat.
Het programma van het symposium is gericht op de brede doelgroep van bestuurders, beleidsvoorbereiders, waterbeheerders, wetenschappers, medewerkers van instituten en bureaus die toekomstverkenningen uitvoeren, milieu-organisaties en andere maatschappelijke organisaties betrokken bij het water.

Bijzonderheden

De kosten voor deelname zijn voor NVA/KIVI-leden f 120,– en voor niet-leden f 150,–. Leden van de NVA en het KIVI krijgen een opgaveformulier in september 1996. Niet-leden kunnen zich opgeven door een deelnameformulier aan te vragen bij het congresbureau van het KIVI, postbus 30424, 2500 GK Den Haag, telefoon 070-391 99 00, fax 070-391 98 40, E-mail KIVIbur@Technet.IAF.NL.
De symposiumdeelnemers krijgen een exemplaar van de Eindrapportage WSV inclusief een versie van de Waterdialoog na afloop uitgereikt.