

# 대농갱이 (*Leiocassis ussuriensis*)의 초기 생식소 형성 및 성분화

박상용 · 이윤아 · 최경철\* · 강언종\*\* · 방인철

순천향대학교 해양생명공학과, \*충북내수면연구소, \*\*국립수산진흥원 진해내수면연구소

## Early Gonadogenesis and Sex Differentiation in the Bagrid Catfish, *Leiocassis ussuriensis*

Sang Yong Park, Youn-A Lee, Kyong Cheol Choi\*,  
Eon-Jong Kang\*\* and In Chul Bang

Department of Marine Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea,

\*Chungbuk Inland Fisheries Research Institute, Chungju 380-250, Korea,

\*\*Chinhae Inland Fisheries Research Institute, NFRDI, Chinhae 645-806, Korea

An histological study was conducted to determine the initial treatment time and treatment duration in the use of sex-reversal hormones in relation to gonadal development and sexual differentiation in the bagrid catfish, *Leiocassis ussuriensis*.

The primordial germ cell, which could be recognized from one-day-old fry, began to protrude into the peritoneal cavity between the mesonephric duct and the gut. The primordial gonad with a genital ridge was developed at 5~10 days after hatching. Sex differentiation of the ovary was identified by the ovarian cavity and meiotic oocytes from 20-day-old larvae. Testicular differentiation was also identified by spermatogonial cells from 20-day-old larvae. It may therefore be concluded that this species belongs to the differentiated type of gonochoristic teleost.

**Key words** : Bagrid catfish, *Leiocassis ussuriensis*, early gonadogenesis, sexual differentiation

### 서 론

대농갱이, *Leiocassis ussuriensis*는 분류학상 메기목 (Order Siluriformes) 동자개과 (Family Bagridae)에 속하며 여기에는 *Leiocassis longirostris*, *L. nitidus*, *L. ussuriensis*, *Pseudobagrus breicorpus*, *P. fulvidraco*, *P. koreanus* 6종이 있다. 대농갱이는 전장이 50 cm에 이르는 대형종으로 한강과 금강 등 우리나라의 각종 하천에 서식하며 북한과 중국, 러시아에도 분포한다(Lee and Kim, 1990). 하천의 중류나 하류, 비교적 물이 맑은 곳에

서 살며 어린 물고기, 물고기의 알, 새우무리, 물에서 사는 곤충, 실지렁이 등을 잡아먹는 육식성이다. 본 종은 매운탕으로 기호도가 높은 중요 식용어이나 최근 자연 자원의 감소와 수요의 증가로 양식의 필요성이 점차 요구되고 있다. 따라서 현재 자원증식 및 국내 수요를 증식시키기 위한 인위적인 양식은 아직 이루어지지 않았으나 본 연구진들에 의해 종묘생산은 시도되고 있으며 차후 담수 양식어류의 새로운 대체 품종으로 기대되는 종이다(정, 1977).

대농갱이는 수컷의 성장이 암컷보다 월등히 빨라 실제 양식 현장에서는 전 수컷 종묘의 생산이 생산성을 높일

수 있다. 전 수컷집단을 생산할 수 있는 방법에는 유전학적 성전환과 생리학적 성전환이 있는데, 유전학적 성전환은 우선 자성호르몬 처리에 의해 생산된 phenotypic female (genetic male)을 친어로 사용하여 단순 교배에 의한 전 수컷 집단을 생산하는 방법이다 (Yamamoto, 1969). 이는 간편한 방법이지만, 실제 중간 교배에 사용되는 친어가 유전적으로 순수하지 못할 경우 100% 단성 개체를 생산하기 어렵다는 단점이 있다 (Fishelson, 1966). 이러한 문제점을 해결하기 위한 방편으로 호르몬 처리에 의해 미분화된 자어의 성전환을 유도하여 전 수컷집단을 생산하는 생리학적 성전환 방법이 그 효용성이 높아 널리 이용되고 있다 (Nakamura, 1982; Hunter and Donaldson, 1983). 하지만 이를 위해선 호르몬에 대한 대상종의 민감성, 호르몬의 농도, 처리 방법, 최초 처리 시기 및 처리 기간 등을 알아야 한다 (Pandian and Sheela, 1995). 따라서 정확한 성전환 처리 방법을 구명하기 위해선 우선 성분화 과정을 조직학적인 방법으로 조사하는 것이 필요하다.

본 연구에서는 성전환에 의해 수컷 대농갱이를 생산하기 위한 기초 연구의 일환으로 우선 본 종의 생식소 기관형성과 초기 생식소 발달을 조직학적으로 조사하여, 대농갱이의 성 종류 및 초기 미분화 생식소의 난소 또는 정소로 분화하는 양상을 구명하고 정확한 호르몬 처리 시기 및 기간을 결정하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험어

대농갱이의 초기 생식소 형성 및 성분화 과정을 조사하기 위하여 충남 부여의 백마강에서 그물망으로 채집한 친어 (평균 전장: 20.6 cm, 평균 체중: 57.9 g)를 사용하였다.

### 2. 산란 유도 및 부화

대농갱이의 산란 유도를 위하여 인간 융모막성 성선 자극 호르몬 (human chorionic gonadotropin, hCG, Sigma, USA)을 어체중당 20,000 IU/kg로 주사하고 24시간이 경과한 후 복부를 가볍게 눌러 알을 얻었다. 건식법에 의해 알과 정자를 수정시킨 후 수정란의 점착력을 제거하기 위하여 1.5%의  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ 에 침지하여 젤리층을 제거한 다음 25°C에서 부화시켰다.

### 3. 사육 및 표본

부화한 자치어는 인공배합사료 섭식이 가능한 시기가

지 물벼룩을 공급하였으며, 매일 1/3 정도의 사육수를 교체하였다.

생식소 관찰을 위한 자치어의 표본은 단계별로 부화 직후에서 7일까지는 매일, 7~10일까지는 3일, 10~30일까지는 5일, 30~80일까지는 10일, 80~120일까지는 20일, 120~150일까지는 30일 간격으로 무작위로 20~30마리씩 표본하였다. 표본된 20~30마리 전 어체를 버어니어 캘리퍼스 전장은 0.01 mm 단위까지, 체중은 전자저울 (Sartorius, Germany)을 사용하여 1 mg 단위까지 측정하였다. 측정이 끝난 표본은 중성 포르말린 또는 Bouin's solution으로 고정된 후 24시간 후에 70% alcohol로 교체하였다.

### 4. 생식소 조직 관찰

생식소 조직 관찰을 위하여 고정된 표본을 전 어체, 또는 생식소 출현 부위를 파악하여 부위별로 파라핀에 포매하여 5  $\mu\text{m}$  두께로 transverse section하였다. 이후 각 절편은 Harris's haematoxylin과 Eosin-phloxine B로 비교 염색하였다. 작성한 조직 절편 슬라이드를 생물현미경 (Olympus, Japan) 하에서 검경하여 생식소 발달 과정과 암·수로의 생식소 성분화 양상을 조사하였다. 각 단계별 특징적인 조직상을 생물현미경에 부착된 디지털 카메라 (Olympus, Japan)로 촬영하였다.

**Table 1.** Growth on the total length and body weight of bagrid catfish during the rearing days

Days after hatching	Total length (mm)*	Body weight (g)*
0	5.2±0.03	—
1	6.2±0.02	—
2	7.3±0.47	—
3	8.7±0.10	—
4	10.3±0.50	—
5	10.8±0.10	—
6	11.0±0.10	—
7	11.2±1.30	—
10	13.6±1.30	—
15	16.3±2.20	—
20	19.4±2.50	—
25	20.3±4.30	0.11±0.1
30	24.9±4.00	0.17±0.1
40	31.7±5.60	0.34±0.3
50	35.7±7.30	0.61±0.3
60	36.7±7.60	0.68±0.3
70	44.8±1.80	1.17±0.2
80	48.9±4.40	1.23±0.2
100	74.0±13.30	4.94±2.8
120	84.6±16.50	6.88±3.9
150	109.2±26.40	14.37±8.1

\* Mean±SD

— Not measured

## 결 과

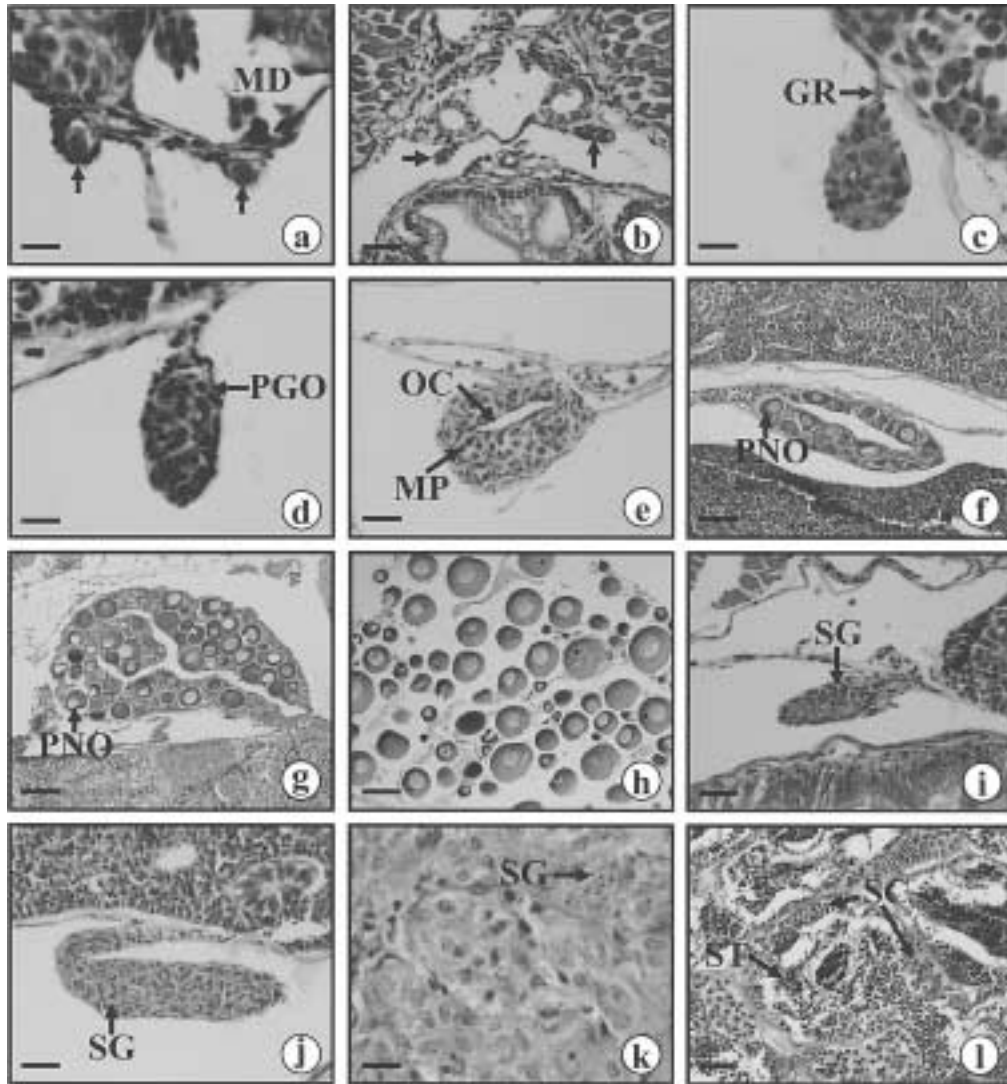
### 1. 사육기간에 따른 성장

대농갱이의 크기와 사육 일수에 따른 성분화 과정을 관찰하기 위하여 부화 후 사육 일수에 따른 전장 및 체중성장을 조사하였다. 전장은 부화 직후에 평균  $5.2 \pm$

$0.03$  mm이었으며 부화 후 150일에는  $109.2 \pm 26.4$  mm로 성장하였고, 체중은 부화 후 25일에  $0.11 \pm 0.1$  g에서 부화 후 150일에는  $14.37 \pm 8.1$  g으로 성장하였다 (Table 1).

### 2. 초기 생식소 형성

원시생식세포 (primordial germ cell)의 출현과 원시생



**Fig. 1.** Transverse section of the gonad in bagrid catfish, *L. ussuriensis*. a~d; undifferentiated gonads, e~h; differentiated ovaries, i~l; differentiated testes. (a) 0.62 cm in total length (TL) fry. Scale bar, 10  $\mu$ m. Arrows indicate primordial germ cells; MD, mesonephric duct. (b) 1.08 cm in TL larva. Scale bar, 25  $\mu$ m. Arrows indicate primordial gonads. (c) 1.10 cm in TL larva. Scale bar, 10  $\mu$ m. GR, Genital ridge. (d) 1.36 cm in TL larva. Scale bar, 10  $\mu$ m. PGO, primordial gonad. (e) 1.94 cm in TL female. Showing meiotic divisions and ovarian cavity of germ cells. Scale bar, 10  $\mu$ m. MP, meiotic prophase; OC, ovarian cavity. (f) 3.57 cm in TL female. Scale bar, 25  $\mu$ m. PNO, peri-nucleolus oocyte. (g) 7.40 cm in TL female. Scale bar, 50  $\mu$ m. PNO, peri-nucleolus oocyte. (h) 8.46 cm in TL female. Scale bar, 25  $\mu$ m. (i) 1.94 cm in TL male. Scale bar, 10  $\mu$ m. SG, spermatogonia. (j) 3.17 cm in TL male. Scale bar, 10  $\mu$ m. SG, spermatogonia. (k) 7.4 cm in TL male. Scale bar, 25  $\mu$ m. SG, spermatogonia. (l) 10.92 cm in TL male. Scale bar, 25  $\mu$ m. SC, spermatocytes; ST, spermatids.

식소를 구성하는 조직의 초기 분화는 부화 1일째부터 15일을 전후한 자어에서 일어나고 있는 것이 관찰되었다 (Fig. 1a~d). 원시생식세포는 부화 직후 자어에서는 발견되지 않았으며 부화 1일째 자어 (평균전장: 0.62 cm)에서 처음으로 출현하였는데 중신관 (mesonephric duct, MD)과 장 (gut, G) 사이의 장간막 양측면에 위치하고 있었다. 원시생식세포는 주변 세포와 쉽게 구별될 수 있는 난형의 세포로 직경이 10  $\mu\text{m}$ 이며 hematoxylin에 약하게 염색되어 투명한 세포질과 둥근 핵을 포함하고 있었으며, 이는 다른 경골어류에서 관찰된 것과 비슷한 위치와 특성을 가지고 있었다 (Fig. 1a). 부화 후 5일째 (평균전장: 1.08 cm) 자어에서는 처음으로 초기생식소로 판별할 수 있는 생식융기 (genital ridge, GR)의 형성이 관찰되었는데 이후 원시생식세포의 크기 및 수적 증가와 더불어 체세포 (somatic cell, SC) 분열이 생식소 끝부분에서 활발히 일어남도 함께 관찰할 수 있었다 (Fig. 1b). 부화 후 6일째 (평균전장: 1.10 cm)부터 부화 후 10일째 (평균전장 1.36 cm) 자어까지 초기 생식소 (primordial gonad, PGO)는 점점 커져 장경이 12  $\mu\text{m}$ 로 늘어난 생식세포와 함께 체세포가 분열되는 것이 관찰되었다 (Fig. 1c, d). 그 후 15일까지의 자어 (평균전장: 1.63 cm)의 생식소는 자어의 성장과 함께 생식소의 길이도 더욱 커져 장경이 신장되었으며, 생식소 내부의 체세포와 원시생식세포도 양적 증가를 나타내었다.

### 3. 난소의 분화

부화 후 20일을 전후한 자어 (평균전장: 1.94 cm)의 난소에서는 생식소의 양 끝으로부터 세포분열이 활발하게 이루어져 난소강 (ovarian cavity, OC)이 형성되고 감수분열 전기단계 (meiotic prophase, MP)의 생식세포들이 나타나기 시작하였다. 난소 소강의 형성은 중앙부분에 나타나는 entovarian sac의 구조를 가지고 있어 난소로의 분화가 이때 시작됨을 확인하였다 (Fig. 1e). 부화 후 50일째 자어 (평균전장: 3.57 cm)의 난소에서는 난소강이 더욱 뚜렷하게 형성되고 내부에는 약 직경 10  $\mu\text{m}$  크기의 주변인기 난모세포 (peri-nucleolus oocyte, PNO)들이 나타나기 시작하였다 (Fig. 1f). 부화 후 100일째 (평균전장: 7.40 cm) 난소에서는 초기 난모세포 (peri-nucleolus oocyte, PNO)가 난소 내에 가득 차기 시작하여 기능적 난소의 형태로 분화하였다 (Fig. 1g). 부화 후 120일째 자어 (평균전장: 8.46 cm)에서는 난소의 크기가 더욱 커지고 핵막 주위에 많은 인이 관찰되는 난모세포 (peri-nucleolus oocyte, PNO)의 크기도 직경 24  $\mu\text{m}$  정도로 성장하였다 (Fig. 1h).

### 4. 정소의 분화

부화 후 20일째 자어 (평균전장: 1.94 cm)의 정소에서 원시생식세포의 확실한 유사분열 단계 (germ cell mitosis)를 관찰함으로써 정소로의 분화를 확인할 수 있었다 (Fig. 1i). 이에 반하여 정원세포 (spermatogonia, SG)의 활발한 증식은 부화 후 40일째 자어 (평균전장: 3.17 cm)의 정소에서야 관찰할 수 있었다 (Fig. 1j). 부화 후 100일째 (평균전장: 7.40 cm) 정소에서는 정원세포가 더욱 분열 증식하였으며 (Fig. 1k), 부화 후 150일째 (평균전장: 10.92 cm) 정소에서는 더 많은 정원세포의 분열과 함께 정모세포 (spermatocyte, SC)도 관찰되었다 (Fig. 1l).

## 고 찰

대농갱이의 원시생식세포 출현은 전장 0.62 cm인 부화 후 1일로, 이러한 결과는 pejerrey (*Odontesthes bonariensis*)와 나일 틸라피아 *Oreochromis niloticus*에서 부화 직후에 출현한 것 (Strüssmann *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 1988)과 거의 유사하였다. 그리고 미꾸라지 *Misgurnus mizolepis*와 은어 *Plecoglossus altivelis*에서 부화 후 2일에 원시생식세포가 출현한 결과 (Kim *et al.*, 1990; Bang *et al.*, 2000)와도 역시 유사하였다. 반면 버들치 *Rhynchocypris oxycephalus*, *Tilapia mossambics*와 *T. zillii*에서는 각각 부화 후 8일, 8~10일 그리고 부화 후 15일에 원시생식세포가 발견되고 있다 (Park *et al.*, 1998; Yoshikawa and Oguri, 1978; Nakamura and Takahashi, 1973). 이러한 원시생식세포 출현 시기는 종 특이성을 나타내며, 냉수성 어류인 산천어 *Oncorhynchus masou*인 경우 부화 후 24일로 다소 늦게 출현하고 있다 (박 등, 1997). 대농갱이는 부화 후 5일째 생식융기의 형성에 의해 처음 초기 생식소로 판별되어 부화 9일째에 초기 생식소가 발견된 나일틸라피아 *O. niloticus*와 비슷한 양상을 보여 주었다 (Kim *et al.*, 1988).

대농갱이에서 성분화가 이루어지는 시기는 부화 후 15~25일째로 나타났다. 이러한 성분화 시기는 어종에 따라 달라, 산천어 *O. masou*에서는 부화 후 40일에 성분화가 일어나며 (박 등, 1997), 은어 *P. altivelis*에서는 90~100일로 약간 늦게 성분화가 일어난다 (Bang *et al.*, 2000). 또한 은연어 *O. kisutch*의 경우 특이적으로 이 시기에 염색체의 연결사 복합체 (synaptonemal complex) 형성을 볼 수 있으며 응축된 염색질을 가진 원시생식세포가 나타난다고 보고된 바 있고 (Foyle, 1993), 무지개송어 *O. mykiss*에서는 난황이 완전히 흡수되고 첫 먹이를

먹는 시기가 성분화 시기에 해당하였다 (Van den Hurk and Slof, 1981). 버들치 *R. oxycephalus*의 경우 암컷은 50일, 수컷으로는 100일에 분화가 되어 암수간에 분화 시기가 크게 차이가 있었다 (Park et al., 1998). 결론적으로 대농갱이에서 정소로의 분화 확인은 부화 후 20일에 정소에서 유사분열단계의 원시생식세포와 정모세포의 출현으로 하였으며, 난소로의 분화 확인은 부화 후 20일에 초기 생식소의 감수분열 단계의 세포와 entovarian sac의 구조 출현으로 가능하였다. 따라서 대농갱이의 성분화 양상은 분화형 자웅 이체 (differentiated gonochorism)였다.

경골어류의 난소강 형성 양상은 난소의 중앙에 난소강이 형성되는 entovarian sac과 난소의 가장 자리에 난소강이 형성되는 parovarian sac의 두 가지 형태로 나누고 있다 (Lee et al., 1996). 은어 *P. altivelis* (Bang et al., 2000), 큰 가시고기 *Gasterosteus aculeatus* (Shimizu and Takahashi, 1980), 틸라피아 *T. zilli* (Yoshikawa and Oguri, 1978), 잉어과 어류인 *Barbus tetrazoa tetrazoa* (Takahashi and Shimizu, 1983)의 난소에는 parovarian sac의 형태가 나타나고 있다. 그리고 청어과 (Clupeidae)에 속하는 *Brevoortia patronus* (Combs, 1969), 홍송어 *Salvelinus leucomaenis* (Nakamura, 1982), 무지개송어 (Takashima et al., 1980), 넙치 *Paralichthys olivaceus* (이와 이, 1990) 등에서는 entovarian sac에 속한다. 본 종의 경우 난소의 중앙에 난소강이 형성되는 entovarian sac의 형태로 나타났다.

이상의 연구 결과 본 종의 호르몬 처리를 위한 최적 처리시기 및 처리 기간은 초기생식소가 형성되는 부화 후 5~10일부터 성분화가 이루어지는 부화 후 20일까지 (10~15일간)가 적당할 것으로 사료된다.

## 요 약

대농갱이, *Leiocassis ussuriensis*의 생리학적인 성전환을 위한 기초적인 연구로 성분화 과정을 조직학적으로 조사하였다. 부화 후 1일째에 중신관과 장 사이의 장간막에 원시생식세포가 나타났으며, 부화 후 5일째의 초기 생식소는 생식용기를 형성하는 원시생식소 구조를 나타내었다. 부화 후 20일째의 생식소는 암, 수로의 분화가 이루어졌는데 정소는 부화 후 20일째에 유사분열 단계의 원시생식세포들이 분포하였으며, 난소에서는 난소를 특징지을 수 있는 entovarian sac의 구조가 난소 중앙부분에 나타났다. 부화 후 40일째 정소에서는 정원세포의 수가 점점 증가하였고, 부화 후 50일째 난소에서는 난소

강이 더 뚜렷해지며 부화 후 100일째 난소에서는 초기 난모세포가 난소내에 가득 차기 시작하여 기능적 난소의 형태로 분화하였다. 이상의 결과 본 종은 초기 성분화 과정은 자성 단계를 거치지 않고 정소와 난소로 분화되는 분화형 자웅이체였다.

## 감사의 글

본 논문은 2000년 경상남도 생명공학기술개발과제 연구비에 의해 수행되었으므로 연구비 지원에 감사드리며, 본 논문을 심사하여 주신 익명의 심사위원들께도 감사드립니다.

## 인 용 문 헌

- Bang, I.C., S.Y. Park, Y.-A. Lee, C.-H. Lee, S.-Y. Kim and K.-K. Kim. 2000. Early gonadogenesis and sex differentiation in sweet fish, *Plecoglossus altivelis*. *J. Aquaculture*, 13 : 215~222.
- Combs, R.M. 1969. Embryogenesis, histology and organology of the ovary of *Brevoortia patronus*. *Gulf Res. Rep.*, 2 : 333~436.
- Fishelson, L. 1966. Cichlidae of the genus *Tilapia* in Israel. *Bamidgheh*, 18 : 67~80.
- Foyle, T.P. 1993. A histological description of gonadal development and sex differentiation in the coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) for both untreated and estradiol immersed fry. *J. Fish Biol.*, 42 : 699~712.
- Hunter, G.A. and E.M. Donaldson. 1983. Hormonal sex control and its application to fish culture. W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson (eds), in *fish Physiology*, Vol. IX, Academic Press, New York, pp. 223~303.
- Kim, D.S., I.C. Bang and I.B. Kim. 1988. Sexual differentiation and androgen sex reversal of *Oreochromis niloticus*. *J. Aquaculture*, 1 : 53~66.
- Kim, D.S., K.-Y. Lee and T.-Y. Lee. 1990. Gonadal sex differentiation in *Misgurnus mizolepis*. *Korean J. Ichthyol.*, 2 : 95~105.
- Lee, C.-L. and I.-S. Kim. 1990. A taxonomic revision of the family bagridae (Pisces, Siluriformes) from Korea. *Korean J. Ichthyol.*, 2 : 117~137.
- Lee, Y.-D., S. Rho, Y.-J. Chang, H.-J. Baek and C.-M. An. 1996. Sex differentiation of the rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 29 : 44~50.
- Nakamura, M. 1982. Gonadal sex differentiation in white-spotted char, *Salvelinus leucomaenis*. *Jap. J. Ichthyol.*, 28 : 431~436.

- Nakamura, M. and H. Takahashi. 1973. Gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica*, with special regard to the time of estrogen treatment effective in inducing complete feminization of genetic males. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 24 : 1~13.
- Pandian, T.J. and S.G. Sheela. 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. Aquaculture, 138 : 1~22.
- Park, I.-S., J.-H. Kim, I.C. Bang and D.S. Kim. 1998. Histological study of the early gonadal development and sexual differentiation in *Rhynchocypris oxycephalus*. Dev. Reprod., 2 : 69~74.
- Shimizu, M. and H. Takahashi. 1980. Process of sex differentiation of the gonad and gonoduct of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 31 : 137~148.
- Strüssmann, C.A., F. Takashima and K. Toda. 1996. Sex differentiation and hormonal feminization in pejerrey, *Odontesthes bonariensis*. Aquaculture, 139 : 31~45.
- Takahashi, H. and M. Shimizu. 1983. Juvenile intersexuality in a cyprinid fish, the Sumatra barb, *Barbus tetra-  
zoa tetrazoa*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 34 : 69~78.
- Takashima, F., R. Patino and M. Nomura. 1980. Histological studies on the sex differentiation in rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 46 : 1317~1322.
- Van den Hurk, R. and G.A. Slof. 1981. A morphological and experimntal study of gonadal sex differentiation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Cell Tissue Res., 218 : 487~494.
- Yamamoto, T. 1969. Sex differentiation. 117~175. Fish Physiology, Vol. III (W. S. Hoar and D. J. Randall). Academic Press, New York, USA.
- Yoshikawa, H. and M. Oguri. 1978. Sex differentiation in a cichlid, *Tilapia zillii*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 44 : 313~318.
- 박인석 · 이영돈 · 정의영. 1997. 산천어, *Oncorhynchus masou*의 성분화. 제주대 해양연보, 21 : 1~9.
- 이영돈 · 이택열. 1990. 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 성분화와 생식소 발달. 제주대 해양연보, 14 : 61~86.
- 정문기. 1977. 한국어도보. 일지사, 서울. pp. 222~230.

Received : November 12, 2001

Accetped : December 18, 2001