

บทที่ 2

ปฏิบัติการเรื่อง พันธุศาสตร์ตามหลักเมนเดล

จุดประสงค์การทดลอง

1. สามารถคำนวณหาอัตราส่วนของลักษณะทางพันธุกรรมตามหลักเมนเดลได้
2. เพื่อให้นักศึกษาเข้าใจการทดลองพิสูจน์กฎของเมนเดลได้
3. เพื่อให้นักศึกษาเข้าใจกฎทั้งสองข้อของเมนเดล

วัสดุและอุปกรณ์การทดลอง

1. ลูกปัด 4 สี (แดง เขียว เหลือง ขาว)
2. ถุงผ้า 4 ใบ
3. จานบรรจุทราย 4 ใบ

บทนำ

หน่วยพันธุกรรมที่ถ่ายทอดลักษณะของสิ่งมีชีวิตจากรุ่นหนึ่งไปยังรุ่นถัดไปเรียกว่า ยีน (gene) ซึ่งเป็น DNA ที่อยู่บนโครโมโซม โดยโครโมโซมจะมีลักษณะรูปร่างเหมือนกันเป็นคู่ ๆ เรียกว่า โฮโมโลกัสโครโมโซม ยีนที่อยู่บนตำแหน่งเดียวกันของโฮโมโลกัสโครโมโซม จะทำหน้าที่ควบคุมลักษณะเดียวกัน เรียกว่า อัลลีลส์ (alleles) ยีนที่เป็นอัลลีลส์กันนั้น อาจเหมือนกันหรือแตกต่างกันไปจากกันก็ได้ ซึ่งมีผลให้ลักษณะนั้น ๆ แสดงออกมาได้ต่าง ๆ กัน บางลักษณะอาจควบคุมด้วยยีนที่เหมือนกัน (homozygous condition) ทั้งคู่หรืออาจควบคุมด้วยยีนที่ต่างกันได้ (heterozygous condition) ในประเด็นหลังนี้ อัลลีลส์หนึ่งอาจจะเป็นลักษณะเด่น คือเด่นเมื่อเปรียบเทียบกับอัลลีลส์อีกตัวหนึ่ง สิ่งมีชีวิตนั้นจะแสดงลักษณะที่ถูกควบคุมโดยอัลลีลส์เด่น การถ่ายทอดยีนขึ้นอยู่กับโอกาสและสามารถแสดงออกในลักษณะของความเป็นไปได้ (probability) ในปัจจุบันเราใช้ตัวอักษรแทนยีน โดยให้อักษรตัวใหญ่แทนลักษณะยีนเด่น (dominant) และอักษรตัวเล็กแทนลักษณะยีนด้อย (recessive)

การทดลองในเชิงปริมาณเกี่ยวกับลักษณะทางกรรมพันธุ์ กระทำขึ้นเป็นครั้งแรก
เมื่อกลางศตวรรษที่ 19 โดยเมนเดล เมนเดลนำต้นถั่วที่มีลักษณะต่างกันอย่างเห็นได้ชัด
เพื่อการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางกรรมพันธุ์ที่ควบคุมโดยยีนหนึ่งคู่ (monohybrid
inheritance) และผลที่ได้ของเขานั้นสรุปได้ว่า

1. ยีนคือหน่วยที่ใช้ถ่ายทอดลักษณะทางกรรมพันธุ์
2. ยีนจะอยู่กันเป็นคู่ และแต่ละยีนอาจเป็น dominant หรือ recessive ต่อกันก็ได้
3. ในเซลล์สืบพันธุ์แต่ละเซลล์จะมียีนเพียง 1 ยีน (จากแต่ละคู่)

ข้อสรุปทั้งสามข้อนี้คือกฎข้อแรกของเมนเดล ที่เรียกว่า กฎการแยกของหน่วย
กรรมพันธุ์ (Law of segregation)

ในการทดลองต่อมาโดยใช้ถั่วเป็นพืชทดลองเช่น เดิม เมนเดลศึกษาการถ่ายทอด
ลักษณะที่ควบคุมโดยยีน 2 คู่ (dihybrid inheritance) ผลที่ได้จากการทดลองนี้สรุปเป็นกฎ
ข้อที่ 2 ของเมนเดลว่า สมาชิกของอัลลีลส์แต่ละคู่จะรวมกับสมาชิกของอัลลีลส์คู่อื่นแบบ
สุ่มเรียกว่า กฎการแยกและการจับคู่อย่างอิสระของหน่วยกรรมพันธุ์ (law of independent
assortment)

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 การทดลองเพื่อหาอัตราส่วนลักษณะทางพันธุกรรมมาจากการ
ผสมพันธุ์ที่ศึกษาลักษณะเพียงลักษณะเดียว

1.1 ให้ลูกปัดสีเหลืองแทนยีน Y ที่อยู่บนโครโมโซมของพ่อ เป็นยีนเด่นควบคุม
ลักษณะของเมล็ดถั่ว ให้ลูกปัดสีเขียวแทนยีนด้อย y บนโครโมโซมของแม่ และควบคุม
ลักษณะเมล็ดถั่วสีเหลือง

1.2 แยกลูกปัดสีเขียวและสีเหลืองอย่างละ 20 เม็ด ใส่ลงในจานแต่ละใบ แล้วจับคู่
ลูกปัดภายในจานเป็นคู่ ๆ ลูกปัดสีเหลืองและสีเขียวแต่ละคู่แสดงยีนโนไทป์ของพ่อและแม่
ตามลำดับ

1.3 แยกลูกปัดแต่ละสีออกจากคูของมัน เปรียบได้กับการแยกของยีนอย่างอิสระ ไปสู่เซลล์สืบพันธุ์ของพ่อและแม่ ดังนั้นในขณะที่ลูกปัดสีเหลืองแต่ละลูกก็จะเป็นตัวแทนของยีน Y ในสเปิร์มแต่ละตัว ในทำนองเดียวกันลูกปัดสีเขียวแต่ละลูกก็จะเป็นตัวแทนของยีน y ในเซลล์ไข่ของแม่ แล้วนำลูกปัดที่แยกนั้นใส่ลงในถุงที่ 1 และที่ 2 ลูกปัดในแต่ละถุงจะแทนเซลล์สืบพันธุ์ของพ่อ (ถุงที่ 1) และแม่ (ถุงที่ 2)

1.4 หยิบลูกปัดอย่างสุ่มจากถุงแต่ละใบแล้วนำมาเข้าคู่กัน ลูกปัดที่นำมาเข้าคู่กันนั้นจะต้องมาจากต่างถุงกัน เป็นการแสดงการผสมพันธุ์ของเซลล์สืบพันธุ์ของพ่อและแม่ ซึ่งผลที่ได้คือลูกผสมรุ่นที่ 1 (F_1) บันทึกลักษณะฟีโนไทป์ และยีนไทป์ ของลูกรุ่น F_1 โดยใช้สัญลักษณ์ของยีนแทน แล้วใส่ลูกปัดกลับคืนถุงเดิม ทำซ้ำเช่นนี้อีก 119 ครั้ง บันทึกข้อมูลลักษณะฟีโนไทป์และยีนไทป์ของรุ่นลูก F_1 ไว้

1.5 จับคู่ลูกปัดแสดงยีนไทป์ของที่ทำในข้อ 1.6 จากนั้นแบ่งลูกปัดที่แสดงยีนไทป์ของ F_1 ออกเป็น 2 กลุ่มจำนวนเท่ากันใส่ลงในจานที่ 1 และ 2 ลูก F_1 ในแต่ละจานจะแทนพ่อหรือแม่ของลูกผสมรุ่นที่ 2 (F_2)

1.6 แยกลูกปัดที่แสดงยีนไทป์พ่อและแม่ของลูก F_2 ออกจากคูของมัน แล้วใส่ลูกปัดทั้งสีเขียวและสีเหลือง ลงในถุงใบที่ 1 และ 2 ตามลำดับ ซึ่งลูกปัดในแต่ละถุงจะแทนเซลล์สืบพันธุ์ของพ่อและแม่ของลูกรุ่น F_2

1.7 หยิบลูกปัดอย่างสุ่มหนึ่งลูกจากถุงแต่ละใบและนำมาเข้าคู่กัน ทำเหมือนข้อ 1.6 เป็นการแสดงการผสมของเซลล์สืบพันธุ์พ่อและแม่ จะได้ลูกผสมรุ่น F_2 บันทึกลักษณะฟีโนไทป์และยีนไทป์ของรุ่นลูก (F_2) ใส่ลูกปัดกลับเข้าสู่ถุงเดิม ทำซ้ำเช่นนี้อีก 119 ครั้ง บันทึกจำนวนฟีโนไทป์และยีนไทป์ลงในตารางผลการทดลอง

ผลการทดลอง

1. ตารางผลการทดลองลักษณะฟีโนไทป์และยีนไทป์ของลูกรุ่น F_2 และทดสอบหา χ^2 (วิธีคำนวณดูภาคผนวก)

ลักษณะ ฟีโนไทป์	ลักษณะ ยีนไทป์	ความถี่ที่ได้ จากการ ทดลอง (O)	ความถี่ที่ควร จะเป็นไปตาม ทฤษฎี (E)	O-E	(O-E) ²	(O-E) ² /E
เมล็ดสีเหลือง			90.0			
เมล็ดสีเขียว			30.0			
จำนวนทั้งหมด		120	120.0			$\chi^2 =$

2. จากสัญลักษณ์ที่กำหนดลักษณะสีของเมล็ดถั่ว ให้นักศึกษาเขียนยีนไทป์แสดงวิธีการผสมจนได้ลูกผสมรุ่น F_2

รุ่นพ่อแม่.....
 เซลล์สืบพันธุ์.....
 ลูกผสมรุ่น F_1
 $F_1 \times F_1$
 เซลล์สืบพันธุ์.....
 ลูกผสมรุ่น F_2
 อัตราส่วนยีนไทป์.....
 อัตราส่วนฟีโนไทป์.....

การทดลองที่ 2 การทดลองเพื่อหาอัตราส่วนของลักษณะทางพันธุกรรมของการผสมพันธุ์ที่ศึกษาสองลักษณะพร้อม ๆ กัน

2.1 ให้ลูกบัตสีเหลืองและสีแดงเป็นยีน Y และ W ที่อยู่บนโครโมโซมต่างกันของพ่อแม่เป็นยีนเด่นที่ควบคุมลักษณะเมล็ดสีเหลือง (Y) และเมล็ดเรียบ (W)

2.2 ในทำนองเดียวกันให้ลูกบัตสีเขียวและขาวแทนยีนด้อย y และ w ซึ่งอยู่บนโครโมโซมของแม่ ยีน y ควบคุมลักษณะสีเขียวของเมล็ดถั่ว และเมล็ดย่นถูกควบคุมด้วยยีน w

2.3 แยกลูกปัดแต่ละสีคือ เขียว แดง เหลือง และขาว อย่างละ 20 เม็ดใส่ในจานที่ 1 ถึงจานใบที่ 4 ตามลำดับ จัดคู่ลูกปัดในจานเป็นคู่ ๆ เพื่อแสดงยีนโไทป์ของแต่ละลักษณะ

2.4 นำแต่ละคู่ของลูกปัดสีเหลืองมาเข้าคู่กับคู่ของลูกปัดสีแดงเพื่อแสดงยีนโไทป์ของพ่อที่มียีนแบบโฮโมไซกัสคอมมิแนนท์ 2 คู่ ควบคุม 2 ลักษณะต่างกันสำหรับลูกปัดสีเขียวและขาวที่แทนยีนของแม่ทำแบบเดียวกัน

2.5 แยกลูกปัดแต่ละเม็ดออกจากคู่ของมัน และนำมาเข้าคู่กัน (สีแดงคู่กับสีเหลือง และสีเขียวคู่กับสีขาว) ลูกปัดสีแดงและสีเหลืองแต่ละคู่จะแทนเซลล์สืบพันธุ์ของพ่อ ในทำนองเดียวกันแต่ละคู่ของลูกปัดสีเขียวและขาวแทนเซลล์สืบพันธุ์ของแม่

2.6 นำลูกปัดแต่ละคู่ที่แทนเซลล์สืบพันธุ์ของพ่อและแม่จากข้อ 2.5 มารวมกลุ่มกัน (จัดการเรียงสีของลูกปัดให้ถูกต้องตามลักษณะการเรียงตัวของยีนโไทป์) เป็นการแสดงการผสมของเซลล์สืบพันธุ์พ่อและแม่ซึ่งจะได้ลูกรุ่นที่ 1 (F1) บันทึกยีนโไทป์และฟีโนไทป์ของลูก F1 ไว้

2.7 แยกยีนโไทป์ของลูกรุ่น F1 ออกเป็น 2 กลุ่ม เท่า ๆ กันซึ่งแต่ละกลุ่มแทนพ่อหรือแม่ของลูกผสมรุ่นที่ 2 (F2) แล้วแยกลูกปัดคู่ที่แทนยีนโไทป์ของพ่อออกจากคู่ของมัน (ลูกปัดสีเขียวแยกจากสีเหลือง และลูกปัดสีแดงแยกจากสีขาว) ใส่ลูกปัดสีเขียวและสีเหลืองลงในถุงที่ 1 ลูกปัดแดงและขาวลงในถุงใบที่ 2 สำหรับลูกปัดที่แทนยีนโไทป์ของแม่ก็ทำแบบเดียวกันคือ ใส่ลูกปัดสีเหลืองและสีเขียวในถุงใบที่ 3 และลูกปัดสีแดงและขาวในถุงใบที่ 4

2.8 หยิบลูกปัดอย่างสุ่มครั้งละหนึ่งลูกจากถุงที่ 1 และ 2 แล้วนำมาเข้าคู่กัน ในขณะเดียวกันก็หยิบลูกปัดครั้งละหนึ่งลูกจากถุงใบที่ 3 และ 4 แล้วนำมาเข้าคู่กัน ลูกปัดคู่ที่หยิบจากถุงใบที่ 1 และ 2 จะแทนยีนในเซลล์สืบพันธุ์ของพ่อ และลูกปัดคู่ที่หยิบจากถุงใบที่ 3 และ 4 แทนยีนในเซลล์สืบพันธุ์ของแม่ จากนั้นบันทึกยีนโไทป์ของเซลล์สืบพันธุ์ของพ่อและแม่เอาไว้ แล้วนำคู่ของลูกปัดจากถุงที่ 1 และ 2 มารวมกลุ่มกับคู่ลูกปัดจากถุงที่ 3 และ 4 เป็นการผสมของเซลล์สืบพันธุ์ของพ่อและแม่ จะได้ลูกผสมรุ่นที่ 2 บันทึกลักษณะฟีโนไทป์และยีนโไทป์ของลูกรุ่น F2 ไว้ สุดท้ายใส่ลูกปัดกลับคืนถุงเดิม

2.9 ทำซ้ำข้อ 2.8 อีก 159 ครั้ง บันทึกลักษณะยีนโหนดของเซลล์สืบพันธุ์ของพ่อและแม่พร้อมทั้งบันทึกจำนวนฟีโนไทป์และยีนโหนดที่ต่างกันของลูกรุ่น F₂ ลงในตารางผลข้อที่ 2

2. ตารางผลการทดลองลักษณะฟีโนไทป์และยีนโหนดของลูกรุ่น F₂ และทดสอบหา χ^2 (วิธีคำนวณดูภาคผนวก)

ลักษณะ ฟีโนไทป์	ลักษณะ ยีนโหนด	ความถี่ที่ได้ จากการ ทดลอง (O)	ความถี่ ที่ควรจะเป็นไป ตามทฤษฎี (E)	O-E	(O-E) ²	(O-E) ² /E
เมล็ดสีเหลืองเรียบ			90.0			
เมล็ดสีเหลืองย่น			30.0			
เมล็ดสีเขียวเรียบ			30.0			
เมล็ดสีเขียวย่น			10.0			
จำนวนทั้งหมด		160	160.0			$\chi^2 =$

2. จากสัญลักษณ์ที่กำหนดลักษณะสีและผิวของเมล็ดถั่ว ให้นักศึกษาเขียนยีนโหนดของพ่อและแม่ แสดงวิธีการผสมจนได้ลูกผสมรุ่น F₂

รุ่นพ่อแม่.....
 เซลล์สืบพันธุ์.....
 ลูกผสมรุ่น F₁.....
 F₁ X F₁.....
 เซลล์สืบพันธุ์.....
 ลูกผสมรุ่น F₂.....
 อัตราส่วนยีนโหนด.....
 อัตราส่วนฟีโนไทป์.....

วิธีทดสอบ X^2 (chi-square)

วิธีทดสอบ X^2 เป็นวิธีที่ใช้แสดงความแตกต่างระหว่างข้อมูลที่ได้จากการทดลองกับข้อมูลที่คาดว่าจะเป็นหรือข้อมูลตามสมมติฐาน เมื่อใช้ X^2 จะต้องมีการตั้งสมมติฐานขึ้นจากนั้นคำนวณค่า X^2 จากสูตรสมมติฐานที่ตั้งขึ้นจะถูกคัดค้านหรือสนับสนุนให้ดูจากตารางค่า X^2 ถ้า X^2 มีค่าน้อยหมายความว่าสนับสนุนสมมติฐานที่ตั้งขึ้น ในทางตรงกันข้ามค่า X^2 ที่มากจะชี้ให้เห็นว่าสมมติฐานที่ตั้งขึ้นใช้ไม่ได้

$$\text{สูตร } X^2 = \frac{(O-E)^2}{E}$$

O = ค่าที่ได้จากการทดลอง

E = ค่าที่คาดว่าจะเป็นหรือค่าสมมติฐาน

ตัวอย่างวิธีหาค่า X^2

1. ในการผสมต้นมะเขือเทศพันธุ์สูงกับพันธุ์ต้นเตี้ย ลูกผสมรุ่นที่ 1 จะได้ต้นสูงทั้งหมด ลูกผสมรุ่นที่ 2 ได้ต้นสูง 94 ต้น ต้นเตี้ย 36 ต้น อยากทราบว่าข้อมูลของลูกรุ่นที่ 2 จะมีอัตราส่วนเป็น 3 : 1 ตามกฎของเมนเดลหรือไม่
2. ก่อนจะคำนวณหาค่า X^2 ต้องตั้งสมมติฐานก่อนว่า ไม่มีความแตกต่างระหว่างข้อมูลที่ได้จากการทดลองและข้อมูลที่ได้ตามสมมติฐาน นั่นคือข้อมูลจากลูกรุ่นที่ 2 จะมีอัตราส่วน 3 : 1 ตามสมมติฐาน
3. คำนวณหาค่า X^2 ดูจากตารางสรุปวิธีคำนวณ

ลักษณะ ฟีนไทป์	ลักษณะ ยีนไทป์	ความถี่ที่ได้ จากการ ทดลอง (O)	ความถี่ที่ควร จะเป็นไปตาม ทฤษฎี (E)	O-E	(O-E) ²	(O-E) ² /E
ต้นสูง	T ₋	94	97.5	-3.5	12.25	0.126
ต้นเตี้ย	tt	36	32.5	-3.5	12.25	0.377
จำนวนทั้งหมด		130	130.0			$X^2 = 0.503$

4. เมื่อได้ค่า X^2 จากการทดลองก็นำมาเปรียบเทียบกับค่า X^2 ในตารางตัวอย่าง แสดงตารางค่า X^2

ตารางค่า X^2

	P(ค่าความเป็นไปได้ที่สมมติฐานจะเป็นจริงและมีความเบี่ยงเบนเนื่องจากโอกาสอย่างเดียว)											
	0.99	0.95	0.90	0.80	0.70	0.50	0.30	0.20	0.10	0.05	0.02	0.01
d.f												
1	.0001	.003	.015	.064	.148	.455	1.074	1.642	2.706	3.841	5.412	6.635
2	.0201	.163	.211	.446	.713	1.386	2.408	3.219	4.605	5.971	7.824	9.210
3	.115	.352	.584	1.005	1.424	2.366	3.665	4.462	6.251	7.816	9.837	11.395
4	.297	.711	1.064	1.649	2.195	3.357	4.878	5.989	7.779	9.488	11.668	13.277

4.1 ช่องแรกตามแนวตั้งคือค่า d.f. (degree of freedom) ก่อนจะเปรียบเทียบค่า X^2 ต้องรู้ d.f. ก่อนว่ามีค่าเท่าไร ค่า d.f. หาได้จาก สูตร $n-1$ n คือจำนวนลักษณะฟีโนไทป์ทั้งหมดจากตัวอย่างที่ให้มามีลักษณะฟีโนไทป์ = 2 (ต้นสูงและต้นเตี้ย) ดังนั้นค่า d.f. = $2-1 = 1$

4.2 ช่องแรกตามแนวนอนคือค่า P เป็นค่าที่แสดงความเป็นไปได้ที่สมมติฐานจะเป็นจริงซึ่งมีค่าจาก 0.99 ถึง 0.01

4.3 ค่าตัวเลขทั้งหมดในตาราง (ยกเว้นค่า d.f. และ ค่า P) เป็นค่า X^2 (ตั้งแต่ .0001 ถึง 13.227)

5. ในการพิจารณาการยอมรับหรือปฏิเสธสมมติฐาน หาค่า X^2 ที่ใกล้เคียงกับค่า X^2 ที่คำนวณได้โดยดูให้ตรงกับแถวของค่า d.f. ที่คำนวณได้ในตาราง และดูว่าตรงกับค่า P เท่าไร ถ้าค่า P มากกว่า 0.5 สมมติฐานที่ตั้งขึ้นแสดงว่าเป็นที่ยอมรับ แต่ถ้าค่า P มีค่าเท่ากับ 0.5 หรือ น้อยกว่า 0.5 สมมติฐานนั้นจะถูกปฏิเสธ

จากตัวอย่างที่ให้มาค่า X^2 ที่คำนวณเท่ากับ 0.503 และมีค่า d.f. = $2-1 = 1$ ดูค่า X^2 ที่ตรงกับช่องที่ 1 d.f. ในตารางค่า 0.503 อยู่ระหว่าง P ที่ 0.30 ($X^2=1.074$) และ 0.50 ($X^2=0.455$) หมายความว่าค่าความเป็นไปได้ที่ความเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง

เนื่องมาจากโอกาสอย่างเดียวนี้อาจมีค่าเกือบ 50% ดังนั้นจึงยอมรับสมมติฐานที่ว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างข้อมูลที่ได้จากการทดลองกับข้อมูลตามสมมติฐาน นั่นคืออัตราส่วนของลูกรุ่นที่ 2 จากการทดลองจะมีค่าประมาณ 3 : 1 และเป็นไปตามกฎของเมนเดล

หลักการถ่ายทอดพันธุกรรม

เมนเดลกับหลักการถ่ายทอดพันธุกรรม

เมื่อประมาณกลางคริสต์ศตวรรษที่ 19 เมนเดลได้ทดลองศึกษาเกี่ยวกับการถ่ายทอดพันธุกรรมของถั่วลันเตา (*Pisum sativum* L.) โดยนำหลักการผสมพันธุ์พืช และนำเอาหลักคณิตศาสตร์และสถิติมาใช้วิเคราะห์ข้อมูลทางชีววิทยา อาจกล่าวได้ว่าวิชาพันธุศาสตร์เป็นสาขาแรกทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพที่นำเอาหลักการเก็บข้อมูลตัวเลขเพื่อการวิเคราะห์ผลการศึกษา เมนเดลเลือกใช้ถั่วลันเตาเป็นตัวอย่างในการทดลองครั้งนี้เพราะว่าเป็นพืชที่มีจำนวนโครโมโซม 2 ชุด (ดิพลอยด์ = $2n$) และมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ แผนการทดลองของเมนเดลที่ทำให้ประสบความสำเร็จประกอบด้วยปัจจัยและข้อมูลต่างๆ ดังนี้

1. คัดเลือกเอาลักษณะกรรมพันธุ์ต่างๆ ของถั่วลันเตาที่แน่ใจว่าเป็นพันธุ์แท้
2. การคัดเลือกเอาคู่ลักษณะกรรมพันธุ์ที่เห็นความแตกต่างได้อย่างชัดเจน เช่น เมล็ดสีเหลือง-สีเขียว ลำต้นสูง-ลำต้นเตี้ย ดอกสีแดง-ดอกสีขาว
3. การเก็บข้อมูลตัวเลขจากการทดลองผสมพันธุ์ของแต่ละคู่ลักษณะแยกกันโดยเด็ดขาดเพื่อป้องกันข้อมูลที่สับสนหรือไขว้เขว
4. สังเกตผลการทดลองและเก็บข้อมูลไปจนถึงลูกผสมรุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3
5. เก็บข้อมูลตัวเลขให้ได้จำนวนมากที่สุดเท่าที่จะทำได้ในลูกผสมแต่ละรุ่นเพื่อให้มีความหมายพอที่จะสามารถนำมาวิเคราะห์ทางสถิติได้
6. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้หลักความน่าจะเป็นไปได้ (probability)
7. การทดลองผสมพันธุ์โดยเลือกใช้ถั่วลันเตาเพราะเป็นพืชที่ผสมเกสรภายในต้นเดียวกันได้ (self- pollination)
8. การเลือกลักษณะกรรมพันธุ์ทั้งหมด 7 คู่ลักษณะ ซึ่งในปัจจุบันทราบว่าเป็นลักษณะที่ควบคุมโดยยีนที่อยู่บนโครโมโซมคนละคู่กัน

1.1 กฎการแยกยีน

จากการทดลองของเมนเดลผสมพันธุ์ถั่วลันเตา โดยพิจารณาลักษณะกรรมพันธุ์ที่ละคู่ เรียกว่า การผสมแบบโมโนไฮบริด (monohybrid cross) ซึ่งจะให้ผลในลูกผสมรุ่น F2 ที่มีลักษณะเด่นต่อ ลักษณะด้อย เป็นอัตราส่วน 3: 1 เสมอ


