

Réponse d'une variété locale (*Tabouchi*) de taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) à une phytohormone (6-benzylaminopurine) en culture *in vitro*

[Response of a local variety (*Tabouchi*) of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) to a phytohormone (6-benzylaminopurine) in *in vitro* culture]

Donwière Some, Siédou Sory, Marie Claire Cece, and Renan Ernest Traore

Equipe Génétique et Amélioration des Espèces, Laboratoire Biosciences, Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Vie et de la Terre, Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

Copyright © 2024 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: Taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) is an under-exploited crop in Burkina Faso, although it can contribute to food self-sufficiency. The major constraint to promoting its cultivation is the unavailability of healthy seeds. Corms are rich in water (75%) and nutrient reserves, making them difficult to store. The use of plant biotechnologies is one of the effective means of overcoming this problem, hence the interest of this study, which focuses on the response of a local variety of taro (*Tabouchi*) to a phytohormone (6-benzylaminopurine) in *in vitro* culture. After budding, the resulting buds were disinfected with NaClO at different doses (2.75, 3 and 3.7%). The disinfected explants were subcultured on ½MS medium supplemented with BAP (2; 4 and 6 mg/L). Seven quantitative characteristics were measured during the trial. With regard to disinfection, the 3.7% NaClO dose showed the lowest contamination rate (43.33%). The culture medium containing 6 mg/L BAP induced sprout tip by inhibiting the root system of *in vitro* plants. All the growth parameters measured showed better performance in the control medium, except for the number of shoots (NR). The control medium did not produce any shoots, even though it promoted the development of the *in vitro* plants' root system. The medium containing 6 mg/L BAP would be recommended for the production of shoots, while the control medium would be favorable for the regeneration of plants without shoots.

KEYWORDS: *Colocasia esculenta*; cytokinin; disinfectant; *in vitro* culture; Burkina Faso.

RESUME: Le taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) est une plante sous exploitée au Burkina Faso alors qu'elle peut contribuer à atteindre l'auto-suffisance alimentaire. Les contraintes majeures à la promotion de sa culture est l'indisponibilité de semences saines. Les cormes étant riche en eau (75%) et en réserves nutritives rend leur conservation difficile. L'usage des biotechnologies végétales est l'un des moyens efficaces pour pallier ce problème, d'où l'intérêt de cette étude qui porte sur la réponse d'une variété locale de taro (*Tabouchi*) à une phytohormone (6-benzylaminopurine) en culture *in vitro*. Après bourgeonnement, les bourgeons ainsi obtenus ont été désinfectés à l'aide de NaClO à différentes doses (2,75; 3 et 3,7%). Les explants désinfectés ont été repiqués sur un milieu ½MS supplémenté de BAP (2; 4 et 6 mg/L). Au cours de l'essai sept caractères quantitatifs ont été mesurés. Concernant la désinfection, la dose de 3,7% de NaClO a présenté le plus faible taux de contamination (43,33%). Le milieu de culture contenant 6 mg/L de BAP a induit des rejets en inhibant le système racinaire des *in vitro* plants. Tous les paramètres de croissance mesurés ont présenté des meilleures performances dans le milieu témoin sauf le caractère nombre de rejets (NR). Le milieu témoin n'a émis aucun rejet alors qu'il a favorisé le développement du système racinaire des *in vitro* plants. Le milieu contenant 6 mg/L de BAP serait à recommander pour la production de rejets tandis que, le milieu témoin serait favorable à la régénération de plants sans rejets.

MOTS-CLEFS: *Colocasia esculenta*; cytokinine; désinfectant; culture *in vitro*; Burkina Faso.

1 INTRODUCTION

En Afrique, la production agricole est beaucoup basée sur la production céréalière. En 2018, un tiers de la production totale était des céréales, suivies des cultures sucrières (24%) et des légumes (12%) [1]. Au Burkina Faso, le secteur agricole représente 40% du PIB et emploie environ 86% de la population active [2]. Cette agriculture repose principalement sur les céréales pluviales (sorgho, mil, maïs,...) qui occupent 98,5% des surfaces emblavées et 98% des productions [3]. Pourtant, les plantes à tubercules et à racines comestibles pourraient alors combler le déficit céréalier. Parmi ces plantes à tubercules, le macabo, l'igname, le manioc, la patate, le souchet, le fabirama, le gingembre et le taro sont les plus cultivées au Burkina Faso. Par contre, leur production reste toujours marginale et certaines d'entre eux ne font pas l'objet de données statistiques nationales. Par exemple, c'est le cas du taro. En outre, le taro possède des valeurs nutritives et thérapeutiques importantes [4] et un bon potentiel agronomique si ses exigences écologiques sont satisfaites [5]. Sa culture peut contribuer à atteindre l'autosuffisance alimentaire et être plus qu'un aliment de soudure. Ces cormes sont vendus et sont sources de revenus pour les producteurs. Malheureusement, ces dernières années la production de taro au Burkina Faso est limitée par des maladies et l'indisponibilité des semences saines. La conservation des cormes du taro étant difficile alors les paysans pratiquent une conservation *in-situ* des rejets. Cependant, ces rejets font l'objet d'attaques parasitaires. A cet effet, la technologie de la culture *in vitro* pourrait permettre d'obtenir des plants sains et accessibles et de permettre la conservation des vitro plants de taro. Ce présent travail dont l'objectif est d'établir un protocole de production de semences saines de taro, pose les bases de désinfection et de micro-propagation de *Colocasia esculenta* au Burkina Faso.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les cormes de taro ont été utilisés comme matériel végétal. Il s'agit des cormes de la variété botanique *Dasheen* de *Colocasia esculenta* appelé *Tabouchi* en langue locale. Ils proviennent de Samorogouan qui est une commune rurale de la province du Kéné Dougou, situé dans la région des Hauts-Bassins à l'ouest du Burkina Faso. Ce sont les bourgeons de ces cormes qui ont été utilisés comme explants pour la culture *in vitro*.

2.2 METHODES

2.2.1 PRODUCTION DES EXPLANTS

Pour l'obtention des explants, les cormes ont été mis en condition de bourgeonnement. Cela a consisté à recouvrir légèrement les cormes avec du sable dans des pots de 10 litres préalablement percés pour faciliter le ressuyage d'eau. Les pots ont été placés dans une chambre couverte d'un toit translucide et clôturée d'un grillage. Chaque pot a reçu environ 500 ml d'eau tous les 2 jours. Les bourgeons des cormes mesurant au moins 1 cm ont été utilisés comme explants.

2.2.2 DÉSINFECTION DES EXPLANTS

Les bourgeons ainsi prélevés ont été d'abord lavés à l'eau filante au robinet puis trempés dans de l'eau distillée contenant quelques gouttes de tween-20 pendant cinq minutes. Ensuite, ces bourgeons ont été mis dans de l'alcool à 70% pendant trois minutes. Enfin, ils ont été trempés dans trois doses de l'hypochlorite de sodium (2,75; 3 et 3,7%) afin de déterminer la meilleure concentration pour la désinfection des explants. Le tween-20 a été additionné dans l'alcool et dans l'hypochlorite de sodium (NaClO) à chacune de ces étapes comme agent mouillant. A la fin de la désinfection, trois rinçages successifs ont été effectués à l'eau distillée stérile pendant 15, 10 et 5 minutes pour éliminer davantage le NaClO. Après le rinçage, les explants ont été placés sur du papier buvard stérile pendant environ 15 minutes pour essorer l'eau. Toutes ces opérations ont été réalisées sous une hotte à flux laminaire horizontal et entre deux bacs benzènes afin de réduire au maximum les risques de contamination. Au total 460 bourgeons ont été désinfectés.

2.2.3 PRÉPARATION DU MILIEU DE CULTURE

Dans cette étude le milieu de base utilisé a été le milieu ½MS. Pour préparer 1000 ml de ce milieu, 500 ml d'eau distillée a été mesurée avec une éprouvette graduée. Ensuite, 2,3 g de ½MS, 30 g de saccharose et 2 g de gelrite (gellan gum) ont été ajoutés. De plus, différentes concentrations de BAP (0; 2; 4; 6 mg/L) a été ajouté à l'aide d'une micropipette afin de déterminer la meilleure concentration. Le contenu a été agité à l'aide d'un barreau aimanté sur une plaque magnétique, puis le pH a été

vérifié et ajusté à $5,7 \pm 0,1$ par ajout d'une solution de NaOH ou de HCl à l'aide d'un pH mètre et d'une micropipette. L'eau distillée a été ajoutée pour compléter à 1000 ml le milieu de culture. L'ensemble a été stérilisé à l'autoclave pendant 15 minutes à 121°C . Enfin, le milieu a été servi dans des bocaux en verre stérile, à raison de 30 ml de milieu $\frac{1}{2}\text{MS}$ par bocal, sous une hotte à flux laminaire horizontal.

2.2.4 MISE EN CULTURE IN VITRO

Les explants prélevés et stérilisés ont été ensemencés dans les milieux de culture préparés à cet effet. Après l'ensemencement, les bocaux ont été hermétiquement fermés et étiquetés. Les bocaux ont été placés dans une chambre de culture sous une photopériode de 16h de lumière avec une intensité lumineuse de 357,25 lux. La température et l'humidité relative moyenne de la chambre de culture a été respectivement de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ et $41,33 \pm 6,9\%$.

2.2.5 COLLECTE DES DONNÉES

Au total 7 caractères quantitatifs ont été évalués, principalement les paramètres sanitaires et de croissance des vitro plants. Il s'agit de la longueur des racines (LR) et la hauteur des vitro plants (HMP) mesurées à l'aide d'un ruban gradué. De plus, le nombre de rejets (NRe), de racines (NRa) et de feuilles (NF) ont été comptés. Les taux de reprise (TR) et de contamination (TC) ont été calculés à l'aide des formules suivantes:

$$TR (\%) = \frac{\text{Nombre d'explants repris}}{\text{Nombre total d'explants ensemencés}} * 100$$

$$TC (\%) = \frac{\text{Nombre de plants contaminés}}{\text{Nombre total d'explants ensemencés}} * 100$$

2.2.6 ANALYSE DES DONNÉES

Les données collectées ont été saisies sur le tableur Excel 2016. Une analyse comparative des caractères quantitatifs des plants issus de chaque dose de BAP s'est faite à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) au seuil de 5%. De même, une analyse de variance a été réalisée pour les différentes doses d'hypochlorite de sodium (NaClO). Ces analyses ont été réalisées avec le logiciel R. Avant ces analyses, un test de normalité a été fait pour chaque caractère.

3 RESULTATS

3.1 REPONSE DES EXPLANTS AUX DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE L'HYPPOCHLORITE DE SODIUM (NaClO)

Tous les paramètres mesurés ne permettent pas de discriminer les différentes doses de l'hypochlorite de sodium (NaClO) utilisé sauf la variable nombre de feuilles (NF) (Tableau 1). Une inhibition de l'apparition des feuilles a été constatée pour 3,7% de NaClO.

Tableau 1. Effets de l'hypochlorite de sodium sur les paramètres de croissance

| Variable | Modalités | HP | NF | NRa | LR | NRe |
|-----------------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Dose de NaClO | N1 | 4,275a | 3,110b | 3,404a | 0,941a | 0,257a |
| | N2 | 4,375a | 4,666b | 3,083a | 0,400a | 0,333a |
| | N3 | 3,644a | 1,735a | 1,823a | 1,611a | 0,088a |
| F | | 1,257 | 5,577 | 1,057 | 1,649 | 0,894 |
| Pr | | 0,287 | 0,004 | 0,350 | 0,195 | 0,411 |
| Significativité | | Non | Oui | Non | Non | Non |

a et b: classes des valeurs issues de la comparaison par le test de Newman Keuls tel que $b > a$; **F:** F de Fisher; **Pr:** Probabilité associée au F de Fisher; **NaClO:** hypochlorite de sodium; **LR:** Longueur des racines; **Nre:** Nombre de rejets; **NRa:** Nombre de racines; **HP:** Hauteur des vitroplants; **NF:** Nombre de feuilles; **N1:** 2,75% de NaClO; **N2:** 3% de NaClO; **N3:** 3,7% de NaClO

3.2 TAUX DE REPRISE ET DE CONTAMINATION DES EXPLANTS

Les explants repiqués ont présenté 61,73% de contamination et 99,34% de reprise. La figure 1 présente les taux de contamination (TC) et les taux de reprise (TR) en fonction de la dose du désinfectant (hypochlorite de sodium) utilisé. En effet,

lorsque la dose de l'hypochlorite de sodium augmente, le taux de contamination diminue. Les taux de contamination ont été déterminés à 20 jours après ensemencement. Au bout du 3^{ème} jours après ensemencement (JAE) des mycéliums et des colonies de bactéries ont apparu dans certains pots. La contamination a entraîné la mort de certains vitro plants. Au cours de l'expérimentation, la plupart des contaminations des vitro plants ont débuté au tour des explants et se sont propagées sur l'ensemble du milieu de culture. Les trois doses de NaClO ont présenté des taux de reprise satisfaisant. La reprise des explants a commencé au bout de 3 JAE.

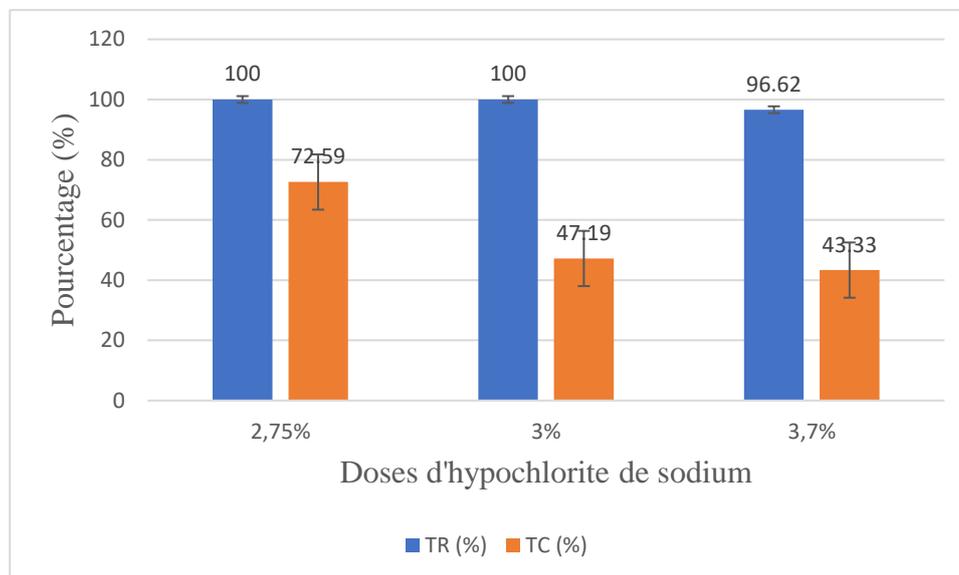


Fig. 1. Taux de contamination (TC) et de reprise (TR) des explants suivant la dose du désinfectant (hypochlorite de sodium)

3.3 PERFORMANCE DES VITRO PLANTS

Sur l'ensemble des explants ensemencés, seuls 13,75% ont émis des rejets, 74,72% ont produit des feuilles et 38,46% ont régénéré des racines. Le tableau 2 présente les maxima, les minima, les moyennes, les écart-types et les coefficients de variation de chaque variable mesurée. La hauteur maximum étant de 13 cm montre que les milieux de culture utilisés ont été favorables pour la croissance des vitro plants. L'apparition des premières feuilles et les premiers rejets a été constaté respectivement au bout de 7 et 14 JAE. La figure 2 présente les différentes parties des vitro plants ainsi que la présence des rejets.

Tableau 2. Performance des vitro plants pour les caractères mesurés

| Variables | Minimum | Maximum | Moyenne | Ecart-type | CV (%) |
|-----------|---------|---------|---------|------------|---------|
| HP (cm) | 1,300 | 13,000 | 4,164 | 2,132 | 51,200 |
| NF | 0,000 | 15,000 | 2,956 | 2,896 | 97,970 |
| NRa | 0,000 | 30,000 | 3,088 | 5,674 | 183,743 |
| LR (cm) | 0,000 | 14,500 | 1,031 | 2,302 | 223,278 |
| NRe | 0,000 | 5,000 | 0,231 | 0,714 | 309,090 |

LR: Longueur des racines; NRe: Nombre de rejets; NRa: Nombre de racines; HP: Hauteur des vitro plants; NF: Nombre de feuilles, CV: coefficient de variation



Appareil végétatif des vitro plants

Présence des rejets *in vitro*

Fig. 2. Régénération des vitroplants de taro (30 JAE)

3.4 EFFET DES DIFFERENTES CONCENTRATIONS DU 6-BENZYLAMINOPURINE (BAP) SUR LES PARAMETRES DE CROISSANCE

Tous les paramètres de croissance mesurés se sont révélés discriminants sauf la variable liée au nombre de feuilles (Tableau 3). Le milieu contenant 6 mg/L de BAP est le milieu qui a présenté plus de vitro plants ayant émis des rejets. Cependant, le milieu témoin, c'est-à-dire le milieu ne contenant pas de BAP a présenté un système racinaire bien développé que les autres milieux contenant le BAP. De même, la hauteur des vitro plants est meilleur dans le milieu témoin.

Tableau 3. Effets de 6-benzylaminopurine (BAP) sur les paramètres de croissance

| Variable | Modalités | HP | NF | NRa | LR | NRe |
|-----------------|-----------|---------|--------|--------|--------|---------|
| Doses BAP | T0 | 4,714b | 2,346a | 5,734b | 2,783b | 0,000a |
| | T1 | 4,323ab | 3,236a | 2,447a | 0,484a | 0,157ab |
| | T2 | 4,055ab | 2,979a | 2,448a | 0,381a | 0,285ab |
| | T3 | 3,560a | 3,347a | 1,478a | 0,306a | 0,434b |
| F | | 2,488 | 1,126 | 5,546 | 16,31 | 2,71 |
| Pr | | 0,004 | 0,340 | 0,001 | 0,000 | 0,0466 |
| Significativité | | Oui | Non | Oui | Oui | Oui |

a et b: classes des valeurs issues de la comparaison par le test de Newman Keuls tel que $b > a$; F: F de Fisher; Pr: Probabilité associée au F de Fisher; BAP: 6-benzylaminopurine; LR: Longueur des racines; NRe: Nombre de rejets; NRa: Nombre de racines; HP: Hauteur des vitro plants; NF: Nombre de feuilles; T0: Témoin (sans BAP), T1: 2mg/L de BAP; T2: 4mg/L de BAP; T3: 6mg/L de BAP.

4 DISCUSSION

La micro-propagation est la propagation clonale *in vitro* des plantes [6]. Les agents pathogènes du taro constituent un obstacle à sa production dans les grandes zones de production au Burkina Faso. Il est donc impératif de développer des protocoles d'organogénèse directe des pousses pour cette culture d'importance alimentaire et nutritionnelle. Ces protocoles permettront de produire un grand nombre de nouvelles plantules de haute qualité en un temps relativement courts et dans un espace réduit. Les plantules issues de la micro-propagation aident à la conservation du matériel génétique des plantes [7]. La reprise des explants prouve que le milieu MS développé par [8] est propice pour la culture *in vitro* des plantes. Ce milieu de base, réduit de moitié est favorable au bon développement de *Colocasia esculenta* comme certains auteurs [9], [10] et [11] l'ont déjà utilisé.

La désinfection effectuée au cours de la manipulation concerne plus ou moins la partie extérieure des explants alors que les micro-organismes pourraient être à l'intérieur tels que, les champignons et les bactéries endophytiques [12]. Ceci expliquerait pourquoi le taux de contamination est assez élevé dans l'ensemble de l'essai. Les explants n'ayant pas survécus auraient à l'initial un état sanitaire défectueux. Un faible taux de contamination a été obtenu pour une concentration de NaClO plus élevée (3,7%). A cette dose, les contaminants de surface sont à majorité détruits. Le NaClO a un mécanisme d'action qui cause des altérations biosynthétiques des parois cellulaires des bactéries et des champignons. A cette dose, aucune nécrose n'a été observée. Cela signifie que la dose de NaClO pourrait être augmentée afin de détruire au maximum les contaminants de surface. Pourtant, à une certaine dose il pourrait être toxique pour les tissus des plantes [13].

Le BAP est principalement utilisée pour la régénération *in vitro* des monocotylédones [14]. Dans cette étude, le BAP a eu un effet sur les paramètres de croissance. De ces résultats, il ressort que plus la concentration de BAP augmente, plus le nombre de rejet augmente. Le milieu contenant 6 mg/L de BAP a induit plus de rejets. Ce milieu serait donc le meilleur milieu de régénérescence des rejets des vitro plants de *Colocasia esculenta*. Cependant, les auteurs [15] et [10] ont rapporté que le milieu contenant 2 mg/L de BAP est le meilleur milieu qui induit les rejets alors que les résultats des travaux de [16] ont révélé que le milieu contenant 8 mg/L de BAP produit le plus de rejets. Cette différence pour le meilleur milieu de rejets pourrait être liée au génotype du taro et les conditions de culture. Selon [17], lorsque la concentration de la cytokinine est élevée, elle provoque un retard dans la formation des pousses. A 8 mg/L de BAP, la dose de toxicité n'est pas atteinte car [16] a obtenu des rejets dans un tel milieu. Aussi, les différentes concentrations ont-elles influencé la production des racines. Le milieu témoin a présenté les meilleurs résultats pour les paramètres liés à la rhizogenèse (NRa et LR) et au feuillage (NF). La cytokinine (BAP) est une phytohormone qui favorise le développement de la partie aérienne en stimulant les rejets. Ainsi le BAP additionné au milieu de base favorise la formation de rejets mais il exercerait un effet inhibiteur sur la formation des racines. Cela pourrait être dû à l'effet de la cytokinine (BAP) dans la libération des pousses de bourgeons latéraux en brisant la dormance apicale par l'inhibition de l'effet d'un niveau élevé d'auxines endogènes [16]. Le milieu témoin a aussi présenté les meilleures performances pour la hauteur des vitro plants (HP). La hauteur des vitro plants décroît lorsque la concentration de BAP augmente. Comme dans le milieu témoin, les vitro plants ont développé plus de racines, alors, ils pourraient se nourrir à travers les racines mais sans les racines les plants puisent difficilement les éléments minéraux dont ils ont besoin pour croître. De plus, un plant ayant des rejets ne pourrait pas croître comme un plant sans rejets car les éléments nutritifs seraient repartis sur l'ensemble des rejets. Le coefficient de variation (CV) de toutes les variables était supérieur à 50%. Selon [18] lorsque le coefficient de variation est supérieur à 30%, cela signifie que les valeurs des variables sont dispersées au tour de la moyenne. Les vitro plants n'étaient pas dans les mêmes milieux de culture. En effet, ceci témoigne de l'effet des différentes concentrations du BAP sur les paramètres de croissance mesurés.

5 CONCLUSION

Le taro est une plante sous exploitée au Burkina Faso. La culture de cette espèce rencontre des difficultés telles que le problème de semences et de maladies parasitaires. L'ensemble de ces problèmes ont suscité l'utilisation de la biotechnologie végétale. Ces résultats montrent que 3,7% de NaClO permet de réduire le taux de contamination des vitro plants. En outre, quand la dose du désinfectant augmente, le taux de contamination diminue. En plus, le milieu ½MS a été propice à la culture tissulaire de la variété *dasheen* car il y a eu des reprises au bout de quelques jours après l'ensemencement. L'étude a montré que le BAP est une phytohormone qui stimule la régénérescence des rejets mais en inhibant la régénérescence des racines. En effet, un bon développement du système racinaire a été observé dans le milieu ne contenant pas de BAP. Le milieu ½MS supplémenté de 6-benzylaminopurine (BAP) a été utilisé pour la régénérescence des vitro plants. Ainsi, 6 mg/L de BAP a favorisé la régénérescence des rejets. En outre, le milieu témoin produit des vitro plants aptes à l'acclimatation car leurs systèmes racinaire et foliaire sont bien développés.

REFERENCES

- [1] FAO, A.U.C., 2021. Africa regional overview of food security and nutrition 2020: Transforming food systems for affordable healthy diets. Food & Agriculture Org.
- [2] Ministère de l'Economie, des Finances et du Développement (MINEFID), 2020. Tableau de bord de l'économie. http://cns.bf/IMG/pdf/tbef-2019_07dec2020_dss.pdf
- [3] Politique Nationale de Sécurité Alimentaire et Nutritionnelle (PNSAN), 2013. Rapport du Burkina Faso sur la Politique Nationale de Sécurité Alimentaire et Nutritionnelle. Burkina Faso. <https://faolex.fao.org/docs/pdf/bkf141993.pdf>
- [4] Ouédraogo, N., Sombié, D., Eric, P.A., Traoré, R.E., Sama, H., Bationo Kando, P., Sawadogo, M., Lebot, V., 2023. Nutritional and phytochemical characterization of taro (*Colocasia esculenta*) germplasm from Burkina Faso.

- [5] Varin, D., Vernier, P., 1994. La culture du taro d'eau (*Colocasia*: *C. esculenta* var. *esculenta*).
- [6] Bhojwani, S.S., Dantu, P.K., 2013. Plant tissue culture: an introductory text. Springer. https://doi.org/10.1007/978-81-322-1026-9_17.
- [7] Gupta, N., Jain, V., Joseph, M.R., Devi, S., 2020. A review on micropropagation culture method. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development* 8, 86–93.
- [8] Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15, 473–497.
- [9] Du, H.M., Tang, D.M., Huang, D.F., 2006. 'Fragrant taro' [*Colocasia esculenta* (L.) Schott var. *antiquorum*] micropropagation using thidiazuron and benzylaminopurine. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 81, 379–384.
- [10] Kepue, M.S., Mweu, C.M., Kariuki, D.M., Kerubo, L., Njaci, I., Njoroge, A., Kago, L., Mware, B.O., Ghimire, S.R., 2021. An efficient in-vitro regeneration system of Taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) using apical meristems. *African Journal of Biotechnology* 20, 293–299. <https://doi.org/10.5897/AJB2020.17115>.
- [11] Hala, S.M.S., ELNagar, M.M., Mohamed, M.H., Badr, L.A., Aliwa, M.E., 2023. Micro propagation of Egyptian taro using tissue culture technique. *Benha Journal of Applied Sciences* 8, 55–65.
- [12] Djoudi, N., Hadji, B., 2020. Application de la biotechnologie de la culture in vitro pour les plantes médicinales. UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA.
- [13] Rodrigues, D.T., Novais, R.F., Venegas, V.H.A., Dias, J.M.M., Otoni, W.C., Villani, E.M. de A., 2013. Chemical sterilization in in vitro propagation of *Arundina bambusifolia* Lindl. and *Epidendrum ibaguense* Kunth. *Revista Ceres* 60, 447–451. <https://doi.org/10.1590/s0034-737X2013000400001>.
- [14] Ramakrishnan, M., Ceasar, S.A., Duraipandiyar, V., Ignacimuthu, S., 2014. Efficient plant regeneration from shoot apex explants of maize (*Zea mays*) and analysis of genetic fidelity of regenerated plants by ISSR markers. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 119, 183–196.
- [15] Seetohul, S., Puchooa, D., Ranghoo-Sanmukhiya, V.M., 2007. Genetic Improvement of Taro (*Colocasia esculenta* var *esculenta*) through in-vitro mutagenesis. *University of Mauritius Research Journal* 13.
- [16] Bogale, A., 2018. Micro-propagation of *Colocasia esculenta* (cv. Bolosso I) from corm and sprout tip explants. *Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development* 10, 147–156.
- [17] Manju, B.E., Mbong, A.G., Fokunang, N.C., Tembe-Fokunang, A.E., Hanna, R., 2017. Application of in-vitro micropropagation technique for sustainable production of four local taro cultivars [*Colocasia esculenta* (L.) Schott] in Cameroon.
- [18] Brown, C.E., 1998. Coefficient of variation, in: *Applied Multivariate Statistics in Geohydrology and Related Sciences*. Springer, pp. 155–157.