A demanda energética atual necessita de fontes alternativas aos combustíveis fósseis, os quais são amplamente utilizados na atualidade. Com isso, a produção de biocombustíveis a partir de materiais lignocelulósicos se mostra eficiente para contribuir com a diminuição dos impactos ambientais gerados pelo consumo excessivo de combustíveis fósseis não renováveis. Portanto, a produção dessa bioenergia ainda apresenta custos de produção elevados, o que inviabiliza a substituição da fonte energética atual por materiais mais ecológicos. Visando diminuir essa problemática, métodos de melhoramento genético em microrganismos, como mutagênese e recombinação gênica, tem mostrado grande aplicação, já que contribuem para o melhoramento do genoma microbiano, que é refletido no seu fenótipo. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar as atividades enzimáticas de linhagens resultantes de um processo de melhoramento genético denominado fusão de protoplastos a partir de linhagens mutantes do fungo Penicillium echinulatum. O processo de fusão de protoplastos consiste basicamente na degradação parcial da parede celular por enzimas líticas e a sua posterior recombinação com agentes químicos ou físicos. Após esse processo experimental, o produto é estabilizado geneticamente e analisado, com o intuito de verificar a sua síntese de enzimas de interesse biotecnológico. Nesse estudo, as linhagens avaliadas foram K4,W3, E10 e N15, que após alguns testes, pode ser comprovado que seus títulos enzimáticos foram significativamente incrementados quando comparados à linhagem parental 9A02S1. Destacam-se as atividades de beta-glicosidase, com títulos de 0,6 U/mL para K4, 0,61 U/mL para W3, 0,54 U/mL para E10, 0,59 U/mL para N15 e 0,19 U/mL para a linhagem parental 9A02S1. Visando identificar as mudanças no complexo enzimático para melhor compreender as mudanças ocorridas nas linhagens fusionantes foram feitos géis de atividade. Verificou-se que os fusionantes apresentaram duas bandas de atividade de beta-glicosidases, enquanto o parental apresentou apenas uma banda. Para endoglicanases e xilanases também foram verificadas maiores quantidades de bandas nos fusionantes que no parental. A partir desse trabalho, pode-se verificar que a técnica de fusão de protoplastos foi eficiente para a obtenção de variantes com valores aumentados para excreção enzimática.